УДК 615.916

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА ЛЕЙКОЦИТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И СИСТЕМУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ – АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В УСЛОВИЯХ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Овсянникова А.И., Болиева Л.З., Дряева Э.Г., Батагова Ф.Э.

ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Владикавказ, e-mail:logitech1984@yandex.ru

Основной целью исследования явилось изучение возможных механизмов протекторной активности селенита натрия в отношении повреждающего действия ацетата свинца на лейкоциты периферической крови. Исследования проведены на 36 крысах-самцах линии Вистар, получавших Pb 10 мг/кг веса ежедневно через зонд в течение 12 недель. Животных делили на три группы: I группа – интактный контроль, II группа – Pb 10 мг/кг веса, III группа Pb 10 мг/кг веса + Se 4 мг/л в течение всего эксперимента. Ацетат свинца приводил к развитию лейкопении, вызывал усиление процессов перекисного окисления липидов, что проявлялось в повышении концентрации maReferencesлонового диальдегида и концентрации гидроперекисей, подавлении активности антиоксидантных ферментов глутатионпероксидазы и каталазы. Добавление селенита натрия в рацион животных на фоне свинцовой интоксикации ослабляло токсическое действие свинца, нормализовало общее количество лейкоцитов в крови в основном за счет нейтрофилов. Селен оказывал выраженное антиоксидантное действие на фоне свинцовой интоксикации, приводил к повышению активности каталазы и глутатионпероксидазы, а также снижению концентрации малонового диальдегида.

Ключевые слова: свинец, свинцовая интоксикация, селенит натрия, лейкоциты, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита

EFFECTS OF SODIUM SELENITE ON LEUKOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD, SYSTEM OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDATIVE ENZYMES UNDER LEAD INTOXICATION

Ovsyannikova A.I., Bolieva L.Z., Dryaeva E.G., Batagova F.E.

North-Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, , e-mail:logitech1984@yandex.ru

The aim of the study was to assess the possible mechanisms of protective activity of sodium selenite on leukocytes of peripheral blood in rat lead toxicity model. Lead toxicity was induced by giving 10 mg/kg body weight lead acetate with drinking water. The first group of 12 rats was intact control, while 12 rats of second group received lead acetate 10 mg/kg body weight and 12 rats of third group received lead acetate 10 mg/kg body weight and sodium selenite 4 mg/l. The number of leukocytes and leukogram was counted. Lead acetate induced intensive lipid peroxidation manifesting by increased reactive oxygen species levels and malondialdehyde formation and significantly decreased activities of catalase and glutathionperoxidase. Sodium selenite effectively protected leukocytes from lead toxicity and demonstrated distinct antioxidant properties manifesting in lower concentration of malondialdehyde and less significant inhibition of catalase and glutathionperoxidase.

Keywords: lead, lead toxicity, sodium selenite, leukocytes, lipid peroxidation, antioxidant system

Свинец – высокотоксичный тяжелый металл, широко распространенный в окружающей среде, особенно в городах с развитой промышленностью и автомобильным транспортом.

В настоящее время установлено, что одним из патогенетических механизмов токсического действия свинца является избыточная активация эндогенных механизмов генерации свободных радикалов и нарушение нормального функционирования системы антиоксидантной защиты (АОЗ), развитие окислительного стресса [10, 13]. Реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ) являются свободнорадикальными и постоянно происходят в организме, этот процесс представлен практически во всех органах и тканях млекопитающих. Активные формы кислорода, образуемые в процессе ПОЛ, обеспечивают цитотоксическое действие фагоцитов [5], являются механизмом регуляции процесса деления клеток [11], обеспечивают модуляцию апоптоза [1] и др. Однако избыточное образование свободных радикалов, возникающее в результате действия прооксидантов, приводит к повреждениям в структуре ДНК, белков и различных мембранных структур клеток. К ферментам, защищающим клетки от действия активных форм кислорода, относят глутатионпероксидазу, супероксиддисмутазу и каталазу. Глутатионпероксидаза – важнейший фермент системы антиоксидантной защиты, восстанавливает гидропероксиды липидов в составе мембран, в качестве кофермента использует селен, при недостатке которого активность антиоксидантной защиты снижается. Учитывая экспериментальные данные, демонстрирующие протекторные свойства селена против

токсичности некоторых тяжелых металлов, а также несомненную роль этого микроэлемента в механизмах поддержания окислительного гомеостаза [6, 12], актуальным является исследование защитных свойств селена в отношении токсического действия свинца.

Цель исследования. Изучение влияния селенита натрия на лейкоциты периферической крови и систему перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты в условиях свинцовой интоксикации.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 36 крысах-самцах линии Вистар с исходной массой 120–130 г. Животные содержались по 6 особей в клетке в стандартных условиях при температуре 20–22 °С и естественном световом режиме на стандартном рационе вивария и получали питьевую воду без ограничений.

Для индукции свинцовой интоксикации животные получали ацетат свинца ежедневно через зонд в дозе 10 мг/кг веса в течение 12 недель. В каждой серии экспериментов животных делили на три группы: I группа служила интактным контролем, животные II группы получали ацетат свинца ежедневно через зонд в дозе 10 мг/кг веса, III группа получала наряду с ацетатом свинца селенит натрия в дозе 4 мг/л в течение всего эксперимента [7].

С целью изучения возможного механизма протекторной способности селенита натрия, в отношении повреждающего действия ацетата свинца на лейкоциты периферической крови до начала введения ацетата свинца и спустя 12 недель у животных под фторотановым наркозом брали кровь из сердца в объеме 5 мл с антикоагулянтом (гепарин).

В крови определяли количество лейкоцитов при помощи гематологического анализатора ERMA PCE-210, лейкоцитарную формулу подсчитывали в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза [2]. Интенсивность перекисного окисления липидов оценивали по концентрации малонового диальдегида (МДА) [3] в эритроцитах и по концентрации гидроперекисей (ГП) [9] в сыворотке крови. Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности каталазы [9] и супероксиддисмутазы (СОД) [8] и глутатионпероксидазы [4].

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью программы «Statistica 6.0». Для оценки достоверности различий между группами использовали тест Манна-Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования получены следующие данные. Воздействие свинца на крыс Вистар в течение 12 недель приводило к снижению абсолютного количества лейкоцитов периферической крови по сравнению с показателем в интактной группе в 1,2 раза ($p < 0,05$). При исследовании лейкоцитарной формулы наблюдалось значимое снижение относительного количества сегментоядерных нейтрофилов в группе, подвергавшейся изолированному действию свинца 1,8 раза ($p < 0,05$). В группе крыс, получавшей наряду с ацетатом свинца селенит натрия, количество лейкоцитов достоверно не отличалось от группы интактного контроля. Добавление селенита натрия в рацион животных на фоне свинцовой интоксикации ослабляло токсическое действие свинца по показателю общего количества лейкоцитов в периферической крови, а также относительному количеству нейтрофилов, что проявлялось в достоверно меньшем угнетении этих показателей у крыс, подвергавшихся сочетанному воздействию (табл. 1).

Таблица 1

Влияние селенита натрия на показатели лейкоцитарной формулы крыс в условиях хронической свинцовой интоксикации

Показатели \ Группы		Группа I Интактные животные (n = 12)	Группа II Pb 10 мг/кг веса (n = 12)	Группа III Pb 10 мг/кг веса + Se 4 мг/л (n = 12)
Лейкоциты, $*10^9$/л		8,2 ± 1,2	6,9 ± 1,3*	8,9 ± 1,8#
Нейтрофилы, %	п/я	2,2 ± 1,3	1,0 ± 0,5	2,4 ± 0,5
	с/я	26,0 ± 3,4	14,8 ± 1,7*	25,4 ± 4,4#
Эозинофилы, %		6,6 ± 3,9	5,6 ± 3,1	5,0 ± 2,0
Базофилы, %		-	-	-
Моноциты, %		2,0 ± 1,0	3,0 ± 2,7	3,2 ± 1,0
Лимфоциты, %		63,2 ± 8,6	75,6 ± 6,4*	64,0 ± 3,2#

Примечания:
Показатели достоверны при $p < 0,05$;
* – достоверно по отношению к I группе;
# – достоверно по отношению ко II группе.

Лейкопения у крыс с хронической свинцовой интоксикацией сопровождалась статистически достоверным повышением в 1,5 раза ($p < 0,05$) концентрации конечного продукта перекисного окисления липидов малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах и гидроперекисей (ГП) в сыворотке крови в 1,4 раза ($p < 0,05$), по сравнению с группой интактного контроля. Также во II группе наблюдались изменения в системе антиоксидантной защиты – активность каталазы и глутатионпероксидазы эритроцитов снизилась в 1,6 ($p < 0,05$) и 1,3 раза ($p < 0,05$) соответственно, тогда как активность супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах была выше в 1,1 раза ($p < 0,05$) показателей интактной группы животных (табл. 2).

Таблица 2

Влияние селенита натрия на систему ПОЛ-АОЗ крыс в условиях свинцовой интоксикации

Показатели \ Группы	Группа I Интактные животные (n = 12)	Группа II Pb 10 мг/кг веса (n = 12)	Группа III Pb 10 мг/кг веса + Se 4 мг/л (n = 12)
СОД, усл.ед.	87,96 ± 4,34	98,80 ± 2,21*	96,64 ± 1,86*
Каталаза, МЕ/гHb	8,30 ± 0,61	5,25 ± 0,79*	6,20 ± 0,92*,#
Глутатионпероксидаза, ЕД/гHb	198,11 ± 7,91	151,75 ± 12,21*	241,38 ± 10,60*,#
МДА, мкмоль/л	39,31 ± 6,01	59,95 ± 4,54*	44,37 ± 4,20#
ГП, мкмоль/л	4,34 ± 1,35	5,95 ± 1,15*	5,21 ± 1,22

Примечания: показатели достоверны при $p < 0.05$;
* – достоверно по отношению к I группе;
# – достоверно по отношению ко II группе.

У экспериментальных животных, получавших селенит натрия, на фоне введения ацетата свинца происходило увеличение концентрации малонового диальдегида в эритроцитах, относительно значений интактной группы животных, однако концентрация малонового диальдегида в эритроцитах была ниже в 1,4 раза ($p < 0,05$) показателей животных, получавших изолированное введение ацетата свинца. У крыс, получавших селенит натрия, на фоне введения ацетата свинца происходило снижение в 1,3 раза ($p < 0,05$) активности каталазы в эритроцитах, относительно значений в группе контроля, однако активность каталазы у них была выше в 1,2 раза ($p < 0,05$), чем у животных, получавших изолированное введение ацетата свинца, одновременно с этим также отмечалось повышение в 1,6 раза ($p < 0,05$) активности глутатионпероксидазы, относительно значений во II группе. Активность супероксиддисмутазы была выше в 1,1 раза ($p < 0,05$), чем в группе контроля, но значимо не отличалась от показателей во II группе (табл. 2).

Выводы

Хроническая свинцовая интоксикация, вызванная введением ацетата свинца в дозе 10 мг/кг веса в течение 12 недель, приводит к развитию лейкопении с нейтропенией, активации свободнорадикального окисления и депрессии антиоксидантной защиты.

Селенит натрия поддерживает устойчивость организма к окислительному стрессу, оказывает антиоксидантное действие на фоне свинцовой интоксикации, снижает концентрацию малонового диальдегида и повышает активность внутриклеточных ферментов антиоксидантной защиты каталазы и глутатионпероксидазы.

Селенит натрия, проявляя антиоксидантную активность, препятствует повреждающему действию продуктов ПОЛ в отношении клеток иммунной системы, что проявляется в достоверно меньшем угнетении общего количества лейкоцитов в крови, в основном за счет нейтрофилов, в группе крыс подвергавшихся сочетанному воздействию.

Список литературы

1. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз / Н.К. Зенсков, Н.Н. Вольский, В.А. Козлов, Е.Б. Меньщикова. // Успехи современной биологии. – 1999. – №5. – С. 440.

2. Гематологические исследования в клинической лабораторной практике: учебное пособие / Ю.В. Первушин, С.А. Луговская, Л.А. Марченко, Н.И. Ковалевич. – Ставрополь: СтГМА, 2006. – 116 с.

3. Камышников В.А. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник. В 2 т. Т.2. – Минск: Беларусь, 2003. – 463 с.

4. Мальцев Г.Ю. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Г.Ю. Мальцев, Н.В. Тышко // Гигиена и санитария. – 2002. – № 2. – С. 69–72.

5. Ройт А. Основы иммунологии. – М.: Мир, 1991. – 328 с.

6. Селен в организме человека: метаболизм, антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе / В.А. Тутельян, В.А. Княжев, С.А. Хотимченко [и др.]. – М.: РАМН, 2002. – 224 с.

7. Селен: Гигиенические критерии состояния окружающей среды. – Женева: ВОЗ, 1989. – 272 с.

8. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы медицинской химии. – 1999. – №3. – С. 36–46.

9. Справочник по лабораторным методам исследования / под ред. Л.А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – 733 с.

10. Adonaylo V.N. Pb2 + promotes lipid oxidation and alterations in membrane physical properties // Toxicology. – 1999. – Vol. 132, №1. – P. 19–32.

10. Cross A.R. Enzymic mechanisms of superoxide production // Biochimica et Biophysica Acta. – 1991. – Vol. 1057. – P. 281–289.

11. Gurer H., Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? // Free Radical Biology and Medicine. – 2000. – №29. – P. 927–945.

12. Kasperczyk S., Birkner E., Kasperczyk A., Zalejska-Fiolka J. / Activity of superoxidedismutase and catalase in people protractedly exposed to lead compounds // Annals of Agricultural and Environmental Medicine. – 2004. – № 11. – P. 291–296.

References

1. Zenskov N.K., Vol'skiy N.N., Koziov V.A., Men'schikova E.B. *Uspekhi sovremennoy biologii* [Biology Bulletin Reviews], 1999, no. 5, p. 440.

2. Pervushin Yu.V., Lugovskaya S.A., Marchenko L.A., Kovalevich N.I. *Gematologicheskie issledovaniya v klinicheskoy laboratornoy praktike: uchebnoe posobie* [Hematological studies in clinical laboratory practice: Manual]. Stavropol, 2006. 116 p.

3. Kamyshnikov V.A. *Kliniko-biokhimicheskaya laboratornaya diagnostika: Spravochnik* [Clinical biochemical laboratory diagnostics: Handbook]. Minsk, 2003. 463 p.

4. Mal'tsev G.Y., Tyshko N.V. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and sanitation], 2002, no. 2, pp. 69–72.

5. Royt A. *Osnovy immunologii* [Essential Immunology]. Moscow, 1991. 328 p.

6. Tutel'yan V.A., Knyazhev V.A., Khotimchenko S.A., Golubkina N.A., Kushlinskiy N.E., Sokolov Ya.A. *Selen v organizme cheloveka: metabolizm, antioksidantnye svoystva, rol' v kantserogeneze* [Selenium in humans: metabolism, antioxidant properties, role in carcinogenesis]. Moscow, 2002. 224 p.

7. *Selen: Gigienicheskie kriterii sostoyaniya okruzhayuschey sredy* [WHO. Selenium. Environmental Health Criteria 58]. Geneva, 1989. 272 p.

8. Sirota T.V. *Voprosy meditsinskoy khimii* [Problems of Medical Chemistry], 1999, no. 3, pp. 36–46.

9. *Danilova L.A. Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya* [Handbook of Laboratory Methods]. Sankt-Peterburg, 2003. 733 p.

10. Adonaylo V.N., Oteiza P.I. *Toxicology*, 1999, vol. 132, no.1, pp. 19–32.

11. Cross A.R., Jones O.T. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1991, Vol. 1057, pp. 281–289.

12. Gurer H., Ercal N. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000, no. 29, pp. 927–945.

13. Kasperczyk S., Birkner E., Kasperczyk A., Zalejska-Fiolka J. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2004, no. 11, pp. 291–296.

Рецензенты:

Джиоев И.Г., д.м.н., профессор, заведующий ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Владикавказ;

Кусова А.Р., д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей гигиены и физической культуры ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Владикавказ.

Работа поступила в редакцию 26.11.2012.