

УДК 577.352.3

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ
ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ НА ФОНЕ ИНТОКСИКАЦИИ
СУЛЬФАТОМ КАДМИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Дзугкоев С.Г., Можаяева И.В., Маргиева О.И., Тедтоева А.И., Отиев М.А., Дзугкоева Ф.С.
*ФГБУН «Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН»,
Владикавказ, e-mail: patbiochem@mail.ru*

Целью исследования было проведение экспериментов на крысах с парентеральным введением в течение 2 недель и 1 месяца различных дозирования сульфата кадмия. Установлено, что на фоне длительной интоксикации сульфатом кадмия развивается окислительный стресс и дисфункция эндотелия, биохимическими маркерами которых являются повышение содержания активных метаболитов кислорода (АМК) и нарушение антиокислительной системы (АОС): снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) и компенсаторное повышение активности каталазы. В этих условиях отмечается и снижение содержания суммарных метаболитов оксида азота (NO) – основного вазодилатирующего фактора. Повреждение структуры клеточных мембран сопровождается снижением активности Na, K-АТФ-азы в гомогенатах коркового и мозгового слоев почечной ткани и одновременным повышением активности гамма-глутамил-транспептидазы (ГГТ) в сыворотке крови у крыс с длительной интоксикацией сульфатом кадмия.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов (ПОЛ), антиокислительная система (АОС), кадмий, NO, дисфункция эндотелия

**BIOCHEMICAL RISK FACTORS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN THE
BACKGROUND OF INTOXICATION CADMIUM SULFATE IN THE EXPERIMENT**

Dzugkoev S.G., Mozhaeva I.V., Margieva O.I., Tedtoeva A.I., Otiev M.A., Dzugkoeva F.S.
*Federal State Institution of Science Institute for Biomedical Research Vladikavkaz Scientific Center RAS,
department of pathobiochemistry, Vladikavkaz, e-mail: patbiochem@mail.ru*

The aim of the study was to carry out experiments on rats with parenteral administration for 2 weeks and 1 month of different doses of cadmium sulfate. We found that during long-term toxicity of cadmium sulfate in experimental rats develop oxidative stress and endothelial dysfunction. Their biochemical markers are high content of active oxygen metabolites (AOM) and violation of the antioxidant system (AOS): reduced activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase activity compensatory increase. Under these conditions, there is a decrease of the total content of nitric oxide (NO) – vasodilator main factor. Damage to the structure of cell membranes is accompanied by decreased activity of Na, K-ATPase in homogenates of cortical and medullar renal tissue layers and a simultaneous increase in the activity of gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) in the blood serum of rats with cadmium sulfate intoxication long.

Keywords: lipid peroxidation (LPO), antioxidant system (AOS), cadmium, NO, endothelial dysfunction

В настоящее время в нашем регионе актуальным становится проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми цветными металлами, в частности, кадмием. Основными источниками поступления в окружающую среду экотоксиканта кадмия являются промышленные предприятия, производство пестицидов, удобрений, теплоэнергетические предприятия мусоросжигательных установок, а также горнодобывающая промышленность [2, 4]. Кадмий – один из самых токсичных тяжелых цветных металлов, отнесен к 1-му классу опасности, обладает эмбриотоксичностью и канцерогенностью [3, 11]. При проникновении в клетки организма он накапливается в митохондриях, лизосомах и ядре, вызывая их ультраструктурные изменения, вступает во многие химические реакции, основными из которых является взаимодействие с сульфгидрильными группами белков и ферментов. При блокировании SH-групп ферменты теряют каталитическую активность, вызывая нарушение процессов

метаболизма, снижение энергообразования и функционального состояния клеток. Основным из патогенетических механизмов, индуцирующих нефротоксическое действие ионов тяжелых металлов, является перекисное окисление липидов. Процесс перекисидации сопровождается деформацией липопротеиновых комплексов клеточных мембран, изменением физико-химических свойств и активности мембраносвязанных ферментов, в частности, Na, K-АТФ-азы. Нарушение динамического равновесия системы ПОЛ – АОС сопровождается снижением содержания NO, одного из основных вазодилатирующих факторов. Одной из причин сниженного содержания NO может быть его взаимодействие с O₂⁻, с образованием пероксинитрита, а также нарушение функционирования фермента NO-синтазы – NOS(3). В результате этих изменений развивается дисфункция эндотелия, являющаяся фактором риска развития гемодинамических нарушений и функционального состояния внутренних органов

[5, 6]. Как и многие другие металлы, кадмий имеет тенденцию к накоплению в организме, период его полувыведения составляет 10–35 лет. Кадмий, обезвреживаясь в печени, повреждает ее и выводится через почки, вызывая развитие нефропатии [1, 9].

Целью нашего исследования было изучение влияния сульфата кадмия на показатели системы ПОЛ – АОС, содержание суммарных метаболитов NO и активности мембранных ферментов.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились на крысах-самцах линии Вистар, массой 200–280 гр. Эксперимент проводился на 2-группах животных: 1-я группа – контрольная, 2-я группа – животные с интоксикацией сульфатом кадмия разной дозировки и длительностью введения. Модель кадмиевой интоксикации

создавали путем ежедневного подкожного введения сульфата кадмия в течение 1 месяца в дозах: 0,8 мг/кг, 1 мг/кг и 1,5 мг/кг массы тела.

Для выяснения метаболических изменений исследовали интенсивность ПОЛ в эритроцитах, гомогенатах коркового и мозгового слоев почечной ткани, которую оценивали по концентрации вторичного продукта ПОЛ – МДА; его определяли колориметрически с тиобарбитуровой кислотой по методу Asacawa (1980) [12]. О состоянии АОЗ судили по активности СОД, которую определяли методом аутоокисления адреналина, каталазы – методом Королюка М.И (1988) [8] и концентрации церулоплазмينا (метод Равина) [7]. Содержание суммарных метаболитов оксида азота (NOx) определяли по реакции деазотирования с реактивом Грисса [10]. Индикаторами мембранных повреждений являлись ферменты – Na, K, АТФ-аза и ГТТФ. Весь полученный материал обрабатывали методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента на ПК по программе Microsoft Excel 2006.

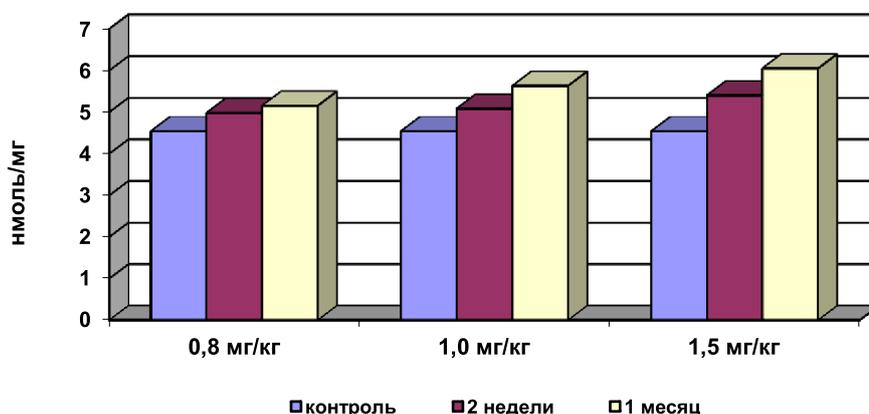


Рис. 1. Концентрация МДА в мембранах эритроцитов при хронической интоксикации, вызванной разными дозами сульфата кадмия

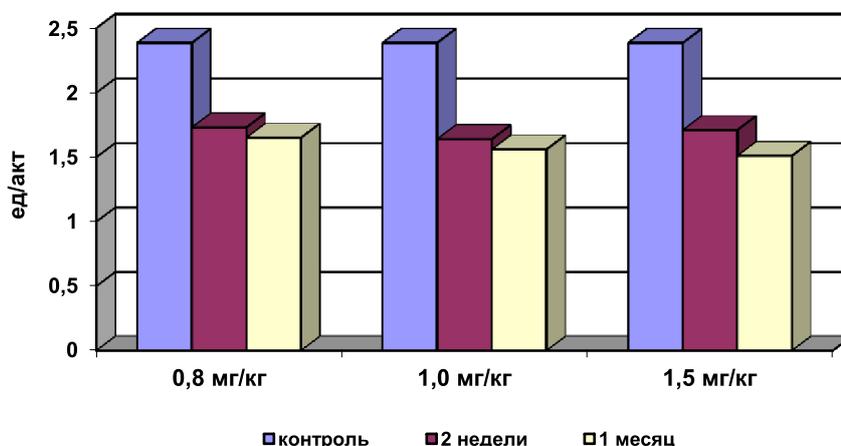


Рис. 2. Активность супероксиддисмутазы в сыворотке крови при хронической интоксикации, вызванной разными дозами сульфата кадмия

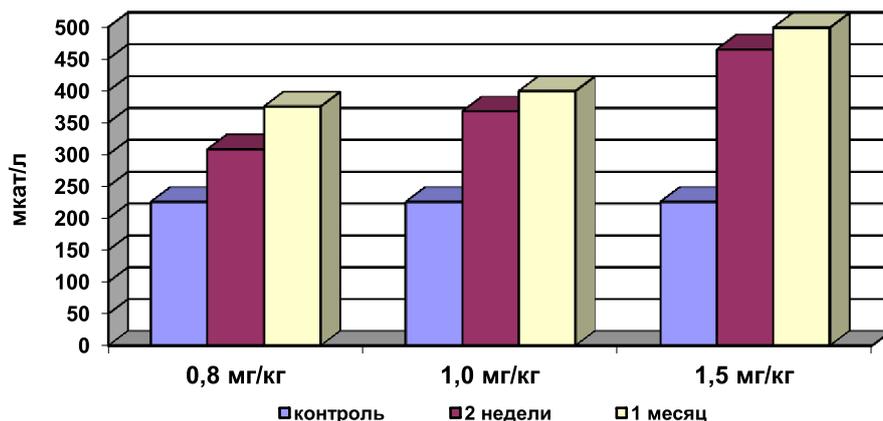


Рис. 3. Активность каталазы в сыворотке крови при хронической интоксикации, вызванной разными дозами сульфата кадмия

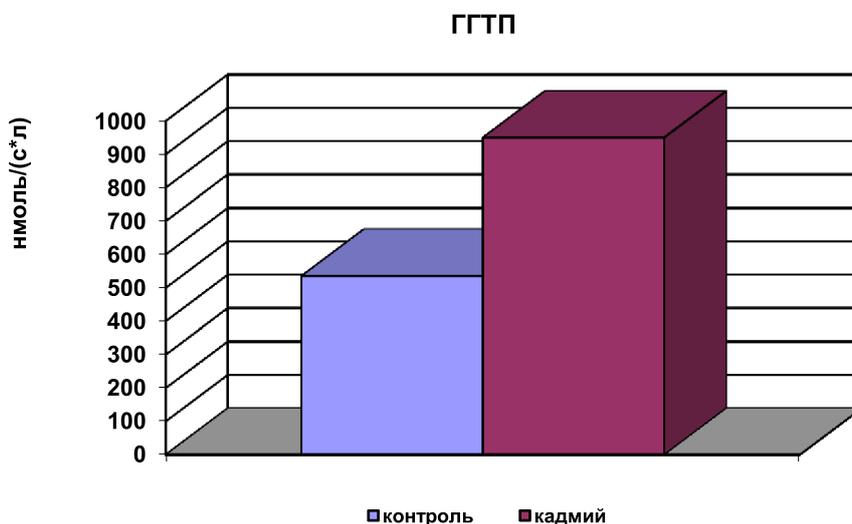


Рис. 4. Активность ГГТП в сыворотке крови при хронической интоксикации, вызванной сульфатом кадмия

Результаты исследования и их обсуждение

Было выявлено, что на фоне интоксикации сульфатом кадмия отмечается активация процессов свободно-радикального окисления (СРО). Результаты исследований свидетельствуют о статистически достоверном повышении концентрации МДА в мембранах эритроцитов (рис. 1), снижении активности СОД (рис. 2) при компенсаторном возрастании активности каталазы (рис. 3), превращающей перекись водорода в молекулу воды и кислорода, и концентрации ЦП в сыворотке крови. Эти данные об изменениях в системе ПОЛ – АОС свидетельствуют о развитии окислительного стресса.

Изучая влияние сульфата кадмия на функциональное состояние почек, как основного экскреторного органа, мы исследовали процессы перекисного окисления липидов в гомогенатах коркового и мозгового слоев почечной ткани. Экспериментальные данные показали, что отмечается активация процессов СРО в обоих слоях почечной ткани (рис. 4). Доза 0,8 мг/кг массы вызывает увеличение концентрации МДА в корковом веществе при подкожном введении сульфата кадмия в течение 2 недель ($p < 0,001$) и в течение 1 месяца ($p < 0,001$), сравнительно с контролем. В мозговом веществе также увеличивается концентрация МДА при экспозиции в течение 2 недель и 1 месяца соответственно ($p < 0,001$; $p < 0,001$).

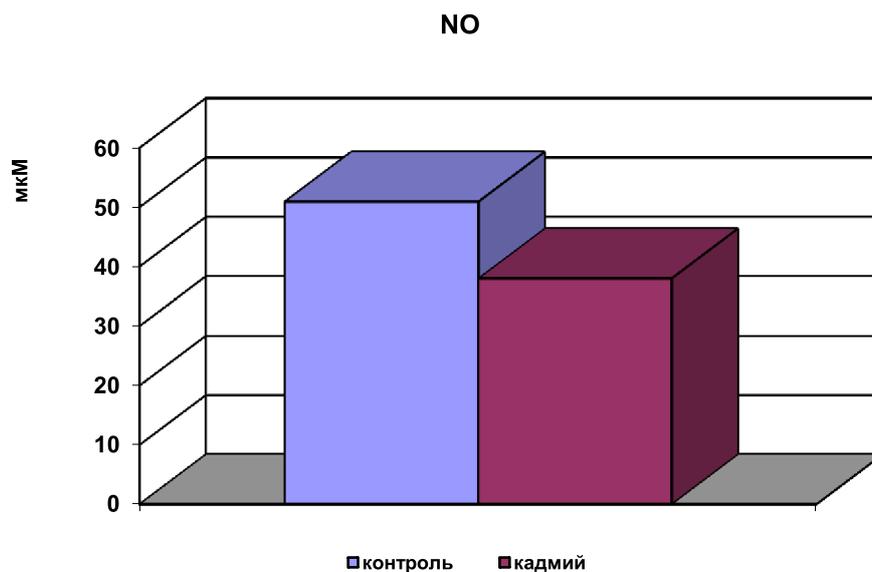


Рис. 5. Концентрация NO в сыворотке крови при хронической интоксикации, вызванной сульфатом кадмия

У животных, с введением сульфата кадмия в дозе 1,0 мг/кг массы, содержание МДА в корковом веществе увеличивается более значительно ($p < 0,001$), сравнительно с контролем. В мозговом веществе почечной ткани на фоне данной дозировки изменения достоверны относительно контроля ($p < 0,001$) и при введении в течение 1 месяца ($p < 0,05$) относительно 2 опытной группы. При введении дозы 1,5 мг/кг массы в течение 2 недель отмечается повышение концентрации МДА в корковом веществе почечной ткани ($p < 0,001$), а при интоксикации в течение 1 месяца ее степень повышается ($p < 0,01$). В мозговом веществе почечной ткани увеличение концентрации МДА высоко достоверно относительно контроля и относительно других опытных групп, как при введении сульфата кадмия в дозе 1,5 мг/кг массы при 2-недельной загрузке, так и в течение 1 месяца.

В условиях окислительного стресса выявлено снижение в сыворотке крови содержания суммарных метаболитов оксида азота, основного вазодилатирующего фактора, вследствие нейтрализации NO АФК. Пероксинитрит, образующийся при этом, является сильным окислителем и повреждающим фактором для эндотелия сосудов. Таким образом, накопление продуктов пероксидации, нарушение метаболизма NO (рис. 5) приводит к дисфункции эндотелия. Биохимическими показателями измененной проницаемости мембран явились снижение активности фермента Na, K, АТФ-азы в мембранах клетки и повышение активности ГГТП в сыворотке крови (рис. 4).

Мы изучали взаимосвязь между изменением концентрации МДА и активностью Na^+K^+ -АТФ-азы в обоих слоях почечной ткани и выявили отрицательную корреляционную связь между интенсивностью перекисного окисления липидов и активностью Na^+ , K^+ -АТФ-азы в корковом веществе почечной ткани ($r = -0,688$ при введении в течение 2-х недель дозы 1,0 мг/кг массы животного, $r = -0,769$ при введении этой же дозировки в течение 1 месяца, $r = -0,697$ и $r = -0,788$ соответственно при подкожном введении сульфата кадмия в течение 2-х недель и 1 месяца в дозе 1,5 мг/кг массы) и в мозговом веществе ($r = -0,673$ и $r = -0,712$ в течение 2-х недель и 1 месяца дозы 1,0 мг/кг массы соответственно; $r = -0,702$ и $r = -0,725$ соответственно при подкожном введении дозы 1,5 мг/кг массы).

Заключение

Таким образом, на фоне интоксикации сульфатом кадмия повышается содержание МДА в эритроцитах, гомогенатах коркового и мозгового вещества почек. Отмечается дисбаланс в АОС: снижение активности СОД в плазме крови и компенсаторное повышение активности каталазы и концентрации ЦП. Активные метаболиты кислорода нейтрализуют оксид азота и отмечается снижение концентрации суммарных метаболитов NO в сыворотке крови, нарушение вазодилатации и дисфункции эндотелия. Продукты ПОЛ повреждают мембраны клеток, в частности, почек, выявлено снижение Na^+K^+ -АТФ-азы в гомогенатах коркового и мозгового вещества почечной ткани и по-

вышение активности ГГТП в сыворотке крови у крыс на фоне кадмиевой интоксикации.

Список литературы

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. АМН СССР. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
2. Бингам Ф.Т. Токсичность металлов в сельскохозяйственных культурах / Ф.Т. Бингам, Ф.Т. Перья, У.М. Джерал // Некоторые вопросы токсичности ионов металлов. – 1993. – С. 101–130.
3. Воронин В.М., Парфенов Ю.Д. Обоснование ПДК кадмия по канцерогенному эффекту // Гигиена и санитария. – 1991. – № 11. – С. 56–58.
4. Гильденскиольд Р.С. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм (обзор) / Р.С. Гильденскиольд, Ю.В. Новиков, Р.С. Хамидулин, Р.И. Анискина, И.Л. Винокур // Гигиена и санитария. – 1992. – № 5–6. – С. 6–9.
5. Дзугкоева Ф.С., Дзугкоев С.Г. Роль эндотелиальной дисфункции в нарушении функции висцеральных органов и патологически обоснованный способ коррекции // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 11. – С. 42–46.
6. Дзугкоева Ф.С., Такоева Е.А. Можаяева И.В., Кочисова З.Х. и др. Состояние активности про- и антиоксидантной системы как факторов риска эндотелиальной дисфункции и почечной недостаточности у больных с хроническими болезнями почек (ХБН) // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 12. – С. 38–39.
7. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. – 2003. – № 2. – С. 71–77.
8. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
9. Магальяс В.Н. Особенности токсических нефропатий, вызванных солями ртути, платины, кадмия, золота / В.Н. Магальяс, Г.И. Кокошук, Ю.Е. Роговой // Проблемы патологии в эксперименте и клинике. Труды Львовского медицинского института. – Львов. – 1991. – С. 47–48.
10. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Клиническая диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15–18.
11. Мирзоев Э.Б. Оценка интенсивности процесса перекисного окисления липидов и проницаемости плазматической мембраны для ионов кальция в тимочитах крыс при воздействии кадмия // Токсикологический вестник. 2005. – № 1. – С. 35–38.
12. Asakawa T., Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test, for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. – 1980. – Vol. 15. – P. 137–140.

References

1. Avcyin A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strohko-va L.S. Mikroelementozy cheloveka: jetiologija, klassifikacija, organopatologija. AMN SSSR. M.: Medicina, 1991. 496 p.

2. Bingam F.T. Toksichnost metallov v selskohozjajstvennyh kulturah / F.T. Bingam, F.T. Perja, U.M. Dzheral // Nekotorye voprosy toksichnosti ionov metallov. 1993. pp. 101–130.
3. Voronin V.M., Parfenov Ju.D. Obosnovanie PDK kadmija po kancerogenomu jeffektu // Gigena i sanitarija. 1991. no. 11. pp. 56–58.
4. Gildenskiold R.S. Tjzhelye metally v okruzhajushhej srede i ih vlijanie na organizm (obzor) / R.S. Gildenskiold, Ju.V. Novikov, R.S. Hamidulin, R.I. Aniskina, I.L. Vinokur // Gigena i sanitarija. 1992. no. 5–6. pp. 6–9.
5. Dzugkoeva F.S., Dzugkoev S.G. Rol jendotelialnoj disfunkcii v narushenii funkcii visceralnyh organov i patologicheski obosnovannyj sposob korrekcii // Fundamentalnye issledovaniya. 2010. no. 11. pp. 42–46.
6. Dzugkoeva F.S., Takoeva E.A. Mozhaeva I.V., Kochisova Z.H. i dr. Sostojanie aktivnosti pro- i antioksidantnoj sistemy kak faktorov riska jendotelialnoj disfunkcii i pochechnoj nedostatochnosti u bolnyh s hronicheskimi boleznyami pochek (HBN) // Uspеhi sovremennogo estestvoznaniya. 2011. no. 12. pp. 38–39.
7. Kamyshnikov V.S. Kliniko-biohimicheskaja laboratornaja diagnostika. 2003. no. 2. pp. 71–77.
8. Koroljuk M.A. Metod opredelenija aktivnosti katalazy / M.A. Koroljuk, L.I. Ivanova, I.G. Majorova // Laboratornoe delo. 1988. no. 1. pp. 16–19.
9. Magaljas V.N. Osobennosti toksicheskikh nefropatij, vyzvannyh soljami rtuti, platiny, kadmija, zlota / V.N. Magaljas, G.I. Kokoshhuk, Ju.E. Rogovoj // Problemy patologii v jeksperimente i klinike. Trudy Lvovskogo medicinskogo instituta. Lvov. 1991. pp. 47–48.
10. Metelskaja V.A., Gumanova N.G. Klin. lab. Diagnostika. 2005. no. 6. pp. 15–18.
11. Mirzoev Je.B. Ocenka intensivnosti processa perekisnogo okislenija lipidov i pronicaemosti plazmaticheskoi membrany dlja ionov kalcija v timocitah kryс pri vozdejstvii kadmija // Toksikologicheskij vestnik. 2005. no. 1. pp. 35–38.
12. Asakawa T., Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test, for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980. Vol. 15. pp. 137–140.

Рецензенты:

Брин В.Б., д.м.н., профессор, зав. отделом физиологии и патологии висцеральных систем ФГБУН «Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН», г. Владикавказ;

Джиоев И.Г., д.м.н., профессор, зав. центральной научно-исследовательской лабораторией ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владикавказ.