

УДК 620.3:546.81:543.542.2:612.124:636.028

## ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКІВ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ МАКРОДИСПЕРСНОЇ ТА НАНОФОРМИ СВИНЦЮ

*Мельникова Н.М., Лазаренко І.А.*

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ  
e-mail:ilazarenko2009@yandex.ru*

Проведено дослідження фракційного складу білків крові щурів отруєних макро-дисперсною та наноформою свинцю. У крові отруєних щурів виявлено 16 білкових фракцій: Ig M, фібриноген, Ig D, Ig G<sub>1</sub>, Ig G<sub>2</sub>, церулоплазмін, гаптоглобін, плазмін, трансферини молекулярною масою 85-80, 75 та 72 кД, альбумін, преальбуміни молекулярною масою 60-50, 45, 35, 20-15 кД. Отруєння щурів наноформою свинцю викликає зміни 11 білкових фракцій крові, а введення щурам макродисперсної форми - 9 білкових фракцій.

*Ключові слова: макродисперсна форма свинцю, наноформа свинцю, кров, білкові фракції.*

### Вступ

Білковий обмін значною мірою визначає фізіолого-біохімічний гомеостаз організму [1, 2]. У плазмі крові міститься більше 300 різних білків, які підтримують онкотичний тиск крові, беруть участь у функціонуванні згортальної систем крові, у підтримці сталості рН, визначають в'язкість крові, беруть участь в транспорті гормонів, ліпідів, жирних кислот, пігментів, мінеральних речовин, а також є носіями природного та набутого імунітету. Білки крові – це динамічна система, яка перебуває в рівновазі з білками тканин і їх кількісний та якісний склад відображає стан білкового обміну в організмі, а також ті зміни, які в ньому відбуваються під впливом внутрішніх та зовнішніх факторів [3, 4].

Одними із основних екотоксикологічних чинників, які впливають на фракційний склад білків крові тварин є сполуки важких металів, в тому числі свинцю [5].

Свинець володіє властивістю діяти на молекули-мішені, а також може викликати утворення вторинних токсикантів, насамперед неспецифічних інтермедіатів, що призводить до порушення ряду обмінних процесів та метаболізму в цілому. Значне накопичення сполук свинцю у крові викликає зміни окисно-відновних,

ферментативних та імунологічних реакцій в організмі з ознаками гепатотоксичного і імунотоксичного впливу [6, 7].

Відомим є факт, що іони свинцю є потужними інгібіторами ферментів білкового синтезу. При токсичному стресі посилюється катаболізм білків внаслідок їх використання як енергетичних субстратів [8] та за рахунок порушення токсикантами структурно-функціональної цілісності функціональних форм білків, зростання помилок у процесі синтезу і походження посттрансляційних модифікацій. Зміна загального вмісту білків у сироватці крові може мати місце внаслідок формування стресових реакцій, при яких продукуються захисні білки, наприклад металотіонеїни, здатні хелатувати та переносити токсичні іони [9, 10].

Особливо актуальним є вивчення можливих негативних впливів наночастинок свинцю на організм, оскільки невеликі розміри та різноманітність їх форм зумовлює відмінності в особливостях надходження в організм, біотрансформації та виведення, взаємодії із клітинними структурами, біологічними молекулами білків, нуклеїнових кислот.[11, 12].

У зв'язку з цим, нині є перспективним дослідження змін метаболізму білків організму залежно від екологічного ста-

ну середовища [13, 14]. Тому, **метою нашої роботи було** електрофоретичне дослідження білків крові щурів за дії макродисперсної та наноформи свинцю.

#### **Матеріали та методи дослідження**

В експериментах використовували статевозрілих самців білих лабораторних щурів масою тіла 200-220 г, які утримувались у групових клітках на стандартному раціоні. Отруєння щурів проводили впродовж 14 діб шляхом перорального введення 1 % розчину свинцю ацетату в дозі 7 мг/100 г маси тіла тварини, що становить 1/110 ЛД<sub>50</sub> та аналогічної дози наночастинок свинцю, отриманих ерозійно-вибуховим методом. Інтактним тваринам перорально вводили відповідну кількість фізіологічного розчину. Дослід проводили за такою схемою: 1 група – інтактні щури; 2 група – щури отруєні ацетатом свинцю (макродисперсна форма); 3 група – щури отруєні наночастинами свинцю (наноформа). У кожній групі було по 10 тварин. Загальний білок визначали біуретовим методом.

Білки досліджували методом гелелектрофорезу в тонкому шарі поліакриламідного гелю з градієнтом концентрації 7 – 18%, розділяючи їх за молекулярною масою, з використанням додецилсульфату натрію (SDS). Білкові зони забарвлювали за допомогою Coomassie Brilliant Blue R – 250 («Sigma»). У якості маркерів молекулярної маси використовували білки, а саме: Molecular Weight Calibration Kits – LMW ( 14,400 – 94,000) «Pharmacia»; Peptide marker kit (1,7 – 17,2) «Pharmacia»; Ultra-low range Molecular Weight Marker (1,06 – 26,6) «Sigma».

Кількісну оцінку проводили скануванням електрофореграм, реконструюванням їх графічно, з послідовним комп'ютерним обчисленням за відносними одиницями оптичної густини та площі білкових зон, загальну суму яких приймали за 100%.

Експерименти проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують

ують у наукових цілях.

Результати досліджень оброблено загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми MS Excel із використанням t-критерію Стюдента.

#### **Результати та обговорення**

При електрофоретичному дослідженні крові щурів, отруєних макродисперсною та наноформою свинцю, було виявлено 16 білкових фракцій, а саме Ig M, фібриноген, Ig D, Ig G<sub>1</sub>, Ig G<sub>2</sub>, церулоплазмін, гаптоглобін, плазмін, трансферини молекулярною масою 85-80, 75 та 72 кД, альбумін, преальбуміни молекулярною масою 60-50, 45, 35, 20-15 кД.

У крові щурів отруєних макродисперсною формою свинцю виявили вірогідні різноспрямовані зміни в 9 білкових фракціях (рис. 1). Так, у крові щурів отруєних макродисперсною формою свинцю, встановлено підвищення рівня Ig G<sub>1</sub> на 20,3 %, Ig G<sub>2</sub> - 14,4 %, церулоплазміну - 28,7%, плазміну - 33,5%, трансферинів молекулярною масою 85-80 та 75 кД на 20,3 та 16,8% відповідно, преальбумінів молекулярною масою 60-50 кД на 45,0% та зниження рівня преальбумінів молекулярною масою 20-15 кД в 1,7 раза та преальбумінів молекулярною масою 45 кД на 27,3% відповідно, порівняно з інтактними тваринами.

При отруєнні щурів наноформою свинцю було виявлено зміни в 11 білкових фракціях крові, а саме зростання рівня Ig G<sub>1</sub> в 1,8 раза, Ig G<sub>2</sub> в 1,5 раза, гаптоглобіну в 1,6 раза, Ig M на 20,3%, фібриногену - 25,5%, церулоплазміну - 24,2%, трансферинів молекулярною масою 85-80 та 75 кД на 36,9 та 20,4% відповідно, преальбумінів молекулярною масою 60-50 кД на 26,7 %, зниження рівня преальбумінів молекулярною масою 20-15 кД в 1,6 раза і Ig D на 44,8 % порівняно з інтактними щурами (рис. 2).

У крові щурів отруєних як макродисперсною так і наноформою свинцю не виявлено вірогідних змін білкових фракцій, таких як трансферини молеку-

лярною масою 72 кД, альбуміни та преальбуміни молекулярною масою 35 кД.

Порівнюючи вплив макродисперсної та наноформи свинцю на вміст білових фракцій в крові отруєних щурів виявлено, що наночастинки свинцю підвищують рівень Ig G<sub>1</sub>, Ig G<sub>2</sub> та гаптоглобін на 47,7%, 33,7% та 41,9% відповідно та знижують рівень Ig D в 1,5 раза, порівняно зі щурами, яким задавали свинець в макродисперсній формі. Натомість макродисперсна форма свинцю викликає підвищення рівня у крові щурів плазміну на 20,6% та зниження рівня преальбумінів молекулярною масою 45 кД на 24,2% порівняно зі щурами отруєними наноформою свинцю.

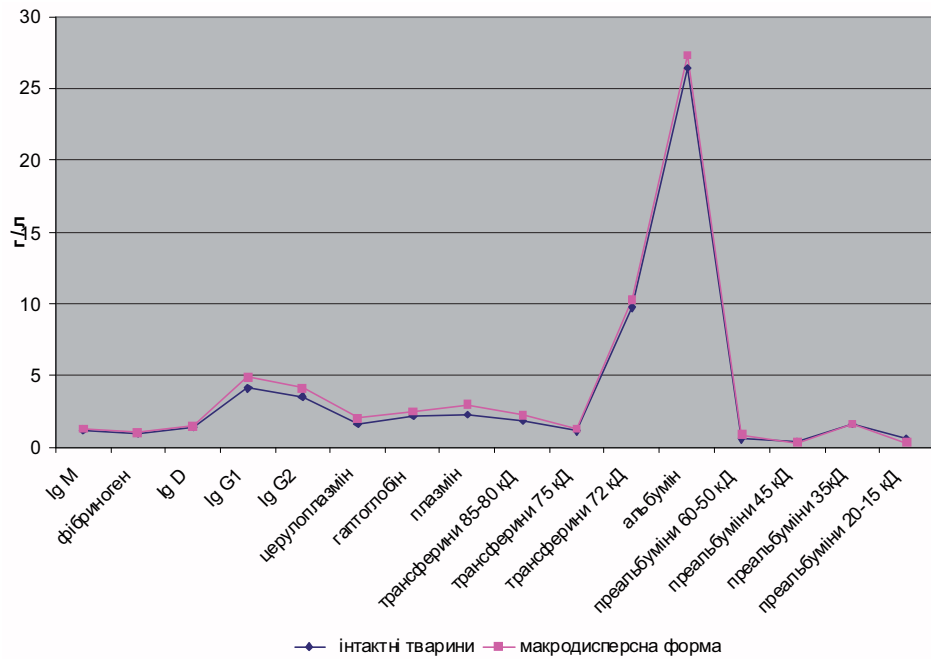


Рис. 1. Білковий склад крові щурів, отруєних макродисперсною формою свинцю

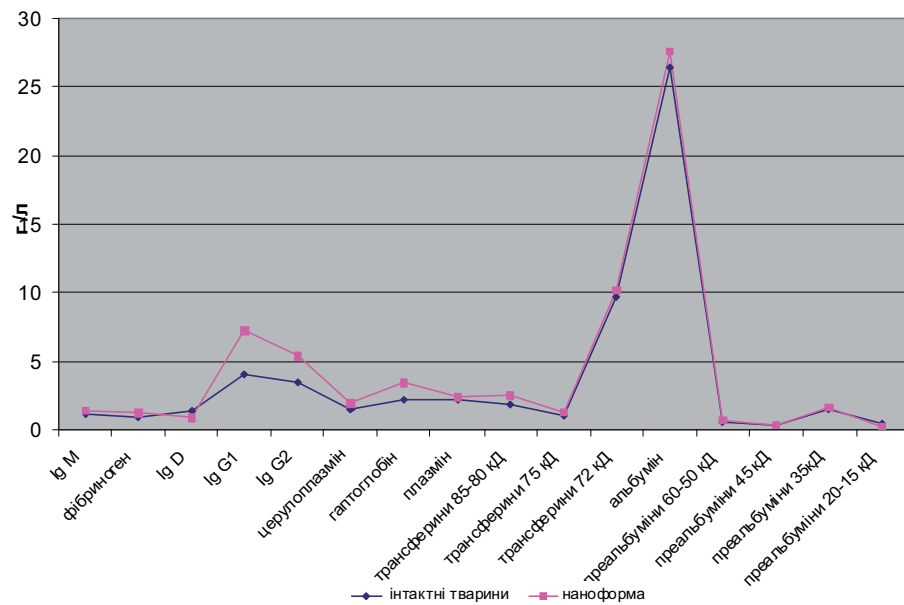


Рис. 2. Білковий склад крові щурів, отруєних наноформою свинцю

### Висновки

Отруєння щурів свинцем в макродисперсній та наноформі призводить до змін 9 та 11 білових фракцій крові відповідно.

Виявлено збільшення рівня гаптоглобіну в крові щурів отруєних наночастинками свинцю, що можливо свідчить про

активацію процесів окиснення в організмі.

Встановлено зростання вмісту Ig G у сироватці крові тварин за інтоксикації свинцем, особливо у наноформі. Це можливо пояснюється більшою біологічною активністю наночастинок свинцю, порівняно зі свинцем у формі макроскопічних дисперсій та здатністю викликати деструктивні зміни білків організму.

**Література**

1. Диспротеинемия / [ И. Вапцаров, М. Иолетов, С. Саввов и др.]. – София: Медицина и физкультура, 1988. – 127 с.
2. Швець В. І. Зміни тканинного протезу при інтоксикації білих щурів малими дозами важких металів / В. І. Швець В. Л. Кісілюк І. Д. Шкробанець // Клінічна та експериментальна патологія. – 2009. – Т.5 №4(30). – С. 87 – 90
3. Козько В.М. Показники білків гострої фази у сироватці крові хворих на вірусний гепатит А / В.М. Козько, Я.І. Копійченко // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. – 2008. – № 797. – С. 84-87
4. Синюк Ю.В. Влияние тяжелых металлов на качественный и количественный состав белков сыворотки крови карпа / Ю. В. Синюк, В. З. Курант, В. В. Грубинко // Гидробиологический журнал. 2003. “ Т. 39, № 3. “ С. 56”64.
5. Курант В. З. Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів : автореф. дис. на здоб. ступ. докт. біол. наук. спец : 03.00.10 «Іхтіологія» / В. З. Курант. — К., 2003. — 43 с.
6. Параняк Р.П. Шляхи надходження важких металів в довкілля та їх вплив на живі організми / Р.П. Параняк, Л.П. Васильцева, Х.І. Макух // Біологія тварин. – 2007. – Т. 9, № 1 – 2. – С. 83 – 87.
7. Дмитруха Н.М. До проблеми імунотоксичності свинцю і кадмію / Н.М. Дмитруха // Современные проблемы токсикологии . – 2009. – № 1. – С. 4 – 8.
8. Синюк Ю.В. Фракційний склад білків *Daphnia magna* Straus як біомаркер інтоксикації важкими металами / Ю.В. Синюк, Ф.А. Прібіч // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біологія. – 2010. – № 2(43). – С.441 – 445.
9. Киричук Г.Є. Вміст білків у тканинах витушки пурпурної (*Mollusca Gastropoda Pulmonata Bulinidae*) при дії іонів металів / Г. Є. Киричук // Доповіді національної академії наук України. – 2009. – №1. – С.161-167
10. Дмитруха Н.М. Дослідження імунотоксичних ефектів важких металів в умовах *in vitro* / Н.М. Дмитруха // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2010. – № 4. – С. 85 – 91.
11. Москаленко В.Ф., Яворовський О.П. Екологічні та токсиколого-гігієнічні аспекти біологічної безпеки нанотехнологій, наночастинок та наноматеріалів // Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О.Богомольця. – 2009. – №3. – С.25-35
12. Курляндский Б.А. О нанотехнологии и связанных с нею токсикологических проблемах // Токсикологический вестник. – 2007. – № 6. – С.2 – 3.
13. Граматюк С.М. Динаміка рівня білків гострої фази у хворих на хронічний вірусний гепатит С з нормальною та підвищеною активністю АЛТ / С. М. Граматюк // Медицина сьогодні і завтра:ХНМУ. – 2009. – № 1. – С.103 – 105
14. Koj A. Initiation of the acute phase response and synthesis of cytokines // *Biochim. Biophys. Acta.* 1996. – Vol. 1317. – P. 84-94.

**Резюме**

**ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИЕ МАКРОДИСПЕРСНОЙ И НАНОФОРМЫ СВИНЦА**

*Мельникова Н.Н., Лазаренко И.А.*

Проведено исследование фракционного состава белков крови крыс отравленных макродисперсной и наночастичной свинца. В крови отравленных крыс обнаружено 16 белковых фракций: Ig M, фибриноген, Ig D, Ig G1, Ig G2, церулоплазмин, гаптоглобин, плазмин, трансферрин молекулярной массой 85-80, 75 и 72 кД, альбумин, преальбумины молекулярной

массой 60-50, 45, 35, 20-15 кД. Отравление крыс наночастичкой свинца вызывает изменения 11 белковых фракций крови, а введение крысам макродисперсной формы - 9 белковых фракций.

*Ключевые слова:* макродисперсна форма свинца, наночастичка свинца, кровь, белковые фракции.

### Summary

#### ELECTROPHORETIC STUDY OF BLOOD PROTEINS UNDER THE ACTION MACRODISPERSED AND NANOFORM LEAD

*Melnikova N.M., Lazarenko I.A.*

A study of the fractional composition of blood proteins in rats poisoned

makrodispersed and nanoform lead. In the blood of poisoned rats found 16 protein fractions: Ig M, fibrinogen, Ig D, Ig G1, Ig G2, ceruloplasmin, haptoglobin, plasmin, transferrin molecular weight of 85-80, 75 and 72 kD, albumin, prealbumin molecular weight of 60-50, 45, 35, 20-15 kD. Poisoning rats nanoform lead causes changes 11 protein fractions of blood, and the introduction of rats makrodispersed forms – 9 protein fractions.

*Key words:* macrodispersed form of lead, lead nanoform, blood, protein fractions

*Вперше поступила в редакцию 20.06.2012 г.*

*Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 577.112.37.591.477:546.48

## ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ, ОТРУЄНИХ КАДМІЄМ

*Шепельова І.А., Деркач Є.А., Мельникова Н.М.*

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна; e-mail: iryna-sh@yandex.ru*

У статті наведено дані експериментальних досліджень щодо вивчення вікових особливостей вмісту вільних амінокислот у печінці щурів за умов отруєння кадмієм. Показано, що вміст вільних амінокислот підвищується в печінці щурів усіх вікових груп. Найбільш виражені кількісні зміни виявлено в печінці отруєних щурів 3-місячного віку.

*Ключові слова:* вільні амінокислоти, кадмій, отруєння, вік, печінка, щури.

### Вступ

Вільним амінокислотам належить важлива біологічна роль у регуляторних і адаптаційних процесах організму, а зміни їх концентрації відображають глибину деструктивних і катаболітичних процесів, які відбуваються в організмі за різних патологічних станів, зокрема при отруєнні сполуками важких металів [1, 3, 8, 13].

Утворення вільних радикалів, яке відбувається, за умов надходження до організму важких металів і кадмію зокрема, прискорює процес пероксидного окиснення, що супроводжується пошкодженням макромолекул та надмолекулярних компонентів клітини, виснаженням

системи антиоксидантного захисту організму, змінами азотного, вуглеводного обміну й інтенсивності біоенергетичних процесів [9, 10]. Ініціація окисної модифікації білків є однією з ланок токсичного пошкодження клітин унаслідок порушення функціонування цитоплазматичних ферментів і мембранних іонних насосів із наступним запуском різноманітних механізмів апоптозу [17].

Отруєння організму важкими металами призводить до порушення процесу гліколізу, функціонування циклу трикарбонних кислот – важливих шляхів біологічного окиснення і генерації енергії, а також до змін амінокислотного складу організму, внаслідок чого порушується