

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВИТАМИНА Е ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КАДМИЕВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Бузоева М.Р.^{1,2}

¹ФГБУН Институт биомедицинских исследований ВНИЦ РАН, Владикавказ, e-mail: buzoevamarina@mail.ru;

²ГБОУ ВО СОГМА Минздрава РФ, Владикавказ

В работе изучается влияние витамина Е на перекисное окисление липидов и функциональные изменения почек у крыс в условиях хронической интоксикации сульфатом кадмия. Витамин Е вводили через атравматичный зонд в желудок каждый день в дозе 200 мг/кг массы тела животных на протяжении 30 дней. Через 30 минут крысам интрагастрально вводили раствор сульфата кадмия (0,5 мг/кг). На автоматизированном пламенном фотометре ФАП-2 оценивали уровни калия и натрия. На спектрофотометре РV1251С-26 (наборы реагентов «АгатМед» (Россия)) исследовали концентрации креатинина, белка, кальция в моче и плазме крови. Расчет показателей водо- и электролитовывделительной функций почек проводили по классическим формулам Ю.В. Наточина. По завершении эксперимента крыс забивали под тиопенталовым наркозом. Оценивали перекисное окисление липидов: малонового диальдегида и гидроперекисей, а также степень активности антиокислительных ферментов, каталазы и супероксиддисмутазы. В результате выявлено, что применение витамина Е при кадмиевой интоксикации способствует уменьшению токсических эффектов, проявляющемуся в менее выраженной полиурии и потере электролитов с мочой, способствует активации ферментов антиокислительной защитной системы клеток.

Ключевые слова: сульфат кадмия, альфа-токоферол, функции почек, перекисное окисление липидов, антиокислительная система.

THE STUDY OF THE POSSIBILITY OF USING VITAMIN E FOR THE PREVENTION OF CADMIUM INTOXICATION

Buzoeva M.R.^{1,2}

¹Biomedical Research of Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Vladikavkaz, e-mail buzoevamarina@mail.ru;

²North Ossetia State Medical Academy, Vladikavkaz

The work studies the effect of vitamin E on lipid peroxidation and functional changes in the kidneys in rats under conditions of chronic intoxication with cadmium sulfate. Vitamin E was administered through an atraumatic probe into the stomach every day at a dose of 200 mg/kg of animal body weight for 30 days. After 30 minutes, a solution of cadmium sulfate (0.5 mg/kg) was intragastrically injected into the rats. In order to assess the water-electrolyte excretion function of the kidneys, at the end of the experiment, rats were placed in exchange cells to collect urine for 6 hours. Protein concentration, potassium, sodium, calcium and creatinine content were determined in urine. The glomerular filtration rate, tubular reabsorption of urine, and diuresis were calculated using special formulas. At the end of the experiment, the rats were slaughtered under thiopental anesthesia. The peroxidation of lipids: malondialdehyde and hydroperoxides, as well as the degree of activity of antioxidant enzymes, catalase and superoxide dismutase were evaluated. As a result, it was revealed that the use of vitamin E in cadmium intoxication helps to reduce toxic effects, manifested in less pronounced polyuria, and loss of electrolytes in urine, promotes the activation of enzymes of the antioxidant protective system of cells.

Keywords: cadmium sulfate, kidney function, alpha-tocopherol, lipid peroxydation, antioxidant system.

Наряду с функциональными и морфологическими изменениями в различных органах и системах экспериментальных животных, показанными, в том числе, и в нашей лаборатории [1], возникающими в ответ на воздействие солей тяжелых и цветных металлов [2], одним из базовых молекулярных механизмов патогенеза токсического влияния экотоксикантов является активация перекисного окисления липидов [3, 4]. В связи с этим актуальным является активное изучение роли антиоксидантов [5], что и определило цель нашего исследования.

Цель: изучить влияние витамина Е на перекисное окисление липидов и функциональные изменения почек у крыс при хронической кадмиевой интоксикации.

Материал и методы исследования

Эксперименты проводили в соответствии с 11-й статьей Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, а также руководствовались правилами лабораторной практики в РФ (приказ МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199).

Эксперимент проведен на крысах-самцах линии Wistar (60 голов). Животные были разделены на пять групп (по 12 в каждой):

первая группа – интактный контроль (фон);

вторая группа – ежедневное внутрижелудочное введение витамина Е (200 мг/кг) в течение 30 дней (контроль № 1);

третья группа – внутрижелудочное введение подсолнечного масла (0,2 мл/100 г) в течение 30 дней (контроль № 2);

четвертая группа – ежедневное в течение 30 дней внутрижелудочное введение раствора сульфата кадмия (0,5 мг/кг);

пятая группа – ежедневное в течение 30 дней внутрижелудочное введение витамина Е (200 мг/кг) и раствора сульфата кадмия в дозе 0,5 мг/кг (через 30 минут после введения витамин Е).

Животные в течение всего эксперимента находились на стандартном рационе с доступом к воде и пище *ad libitum* при естественном освещении.

Раствор сульфата кадмия (0,5 мг/кг массы (в пересчете на металл)) вводили внутрижелудочно через зонд ежедневно в течение 30 дней. В качестве витамина Е использовался синтетический масляный раствор токоферола ацетата (ОАО «Самарамедпром»). В качестве второго контроля применялось обычное рафинированное подсолнечное масло (растворитель витамина Е).

Животных помещали в специальные обменные клетки для сбора мочи. Сбор мочи в отдельные емкости осуществляли в течение 6 часов. Животных забивали под тиопенталовым наркозом.

На пламенном фотометре ФАП-2 (автоматизированном) оценивали уровни калия и натрия. На спектрофотометре PV1251C-26 (наборы реагентов «АгатМед» (Россия)) исследовали концентрации креатинина, белка, кальция в моче и плазме крови. Расчет параметров водо- и электролитовыделительной функций почек проводили по классическим формулам Ю.В. Наточина.

Для оценки интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах эритроцитов исследовали содержание малонового диальдегида (МДА) по методу В.Б. Гавриловой, основанному на взаимодействии с тиобарбитуровой кислотой и гидроперекисей

(ГП). О состоянии антиоксидантной защиты (АОЗ) свидетельствовали уровень супероксиддисмутазы (СОД), который определяли с помощью аутоокисления адреналина, и степень активность каталазы (Кат), определяемая по методу E. Beutler в сыворотке крови.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы GraphPad Prizm 6.1. Нормальность распределения исследуемых параметров оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Исходя из количества вариантов в выборке нормального распределения оцениваемых параметров плазмы крови и мочи применяли параметрическую статистику. Достоверность между группами оценивали t-критерием Стьюдента. О наличии достоверных факторных воздействий судили при $p \leq 0,05$. Также рассчитывали линейный коэффициент корреляции Пирсона с использованием программы MICROSOFT EXCEL 2010.

Результаты исследования и их обсуждение

При оценке результатов эксперимента выявлено, что внутрижелудочное введение витамина Е, равно как и аналогичного объема подсолнечного масла (как второго контроля), достоверно не изменило показателей перекисного окисления липидов. Наряду с этим витамин Е способствовал увеличению ($p < 0,05$) активности ферментов антиоксидантной защиты в клетках: увеличилось содержание супероксиддисмутазы и каталазы (табл. 1). Ежедневное на протяжении месяца введение сульфата кадмия крысам привело к активации процессов перекисного окисления липидов клеточных мембран, о чем свидетельствует повышение ($p < 0,001$) концентрации гидроперекисей и малонового диальдегида в мембранах эритроцитов. Под влиянием внутрижелудочного введения сульфата кадмия отмечается угнетение системы антиоксидантной системы защиты клеток, так как понизилась ($p < 0,001$) активность и каталазы, и супероксиддисмутазы. Дополнительное к введению раствора сульфата кадмия применение витамина Е снижало ($p < 0,001$) относительно значений в группе с изолированным введением соли металла процессы пероксидации в клетках и способствовало компенсаторному повышению ($p < 0,001$) относительно фона и опытной группы активности каталазы и СОД (табл. 1).

Таблица 1

Изменение активности ПОЛ и АОЗ под влиянием введения витамина Е в условиях кадмиевой интоксикации

| | Стат. показатель | ГП | МДА | СОД | Каталаза |
|---------------------|------------------|-----------|-------------|------------|-----------|
| Фон | M±m | 4,23±0,08 | 26,2±0,12 | 77,6±0,13 | 6,23±0,21 |
| Вит. Е (контроль 1) | M±m | 4,4 ±0,03 | 26,12±0,058 | 79,12±0,21 | 6,95±0,02 |

| | | | | | |
|------------------------------------|-----|-----------|------------|------------|-----------|
| | p | | | *) | *) |
| Подсолн. масло (контроль 2) | M±m | 4,3±0,09 | 25,95±0,07 | 78,1±0,3 | 6,33±0,05 |
| | p | | | | |
| CdSO ₄ (опытная гр.) | M±m | 6,2±0,008 | 33,4±0,05 | 70,09±0,17 | 5,24±0,03 |
| | p | *) | *) | *) | *) |
| Вит Е + CdSO ₄ | M±m | 5,4±0,024 | 30,21±0,14 | 80,9±0,58 | 6,87±0,13 |
| | p | *)**) | *)**) | *)**) | *)**) |

Примечание. *) – к фоновым значениям; **) – к значениям в группах с изолированным введением сульфата кадмия; (вит. Е – введение витамина Е; подсолн. масло – введение подсолнечного масла 0,2 мл/100 г; Cd 0,5 – введение сульфата кадмия (0,5 мг/кг); Cd+вит. Е – введение сульфата кадмия (0,5 мг/кг) и витамина Е.

Интрагастральное введение синтетического раствора витамина Е и подсолнечного масла достоверно не изменило уровень диуреза в контрольных группах животных, несмотря на некоторое ($p < 0,05$) снижение скорости клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции воды (рис. 1, 2). Повреждающее действие продуктов ПОЛ в условиях кадмиевой интоксикации отразилось на функциональном уровне развитием полиурии ($p < 0,001$), которая, очевидно, была вызвана замедлением канальцевой реабсорбции воды ($p < 0,001$). А при сочетанном применении витамина Е и сульфата кадмия наблюдалось уменьшение 6-часового диуреза относительно группы с изолированным использованием соли кадмия ($p < 0,001$).

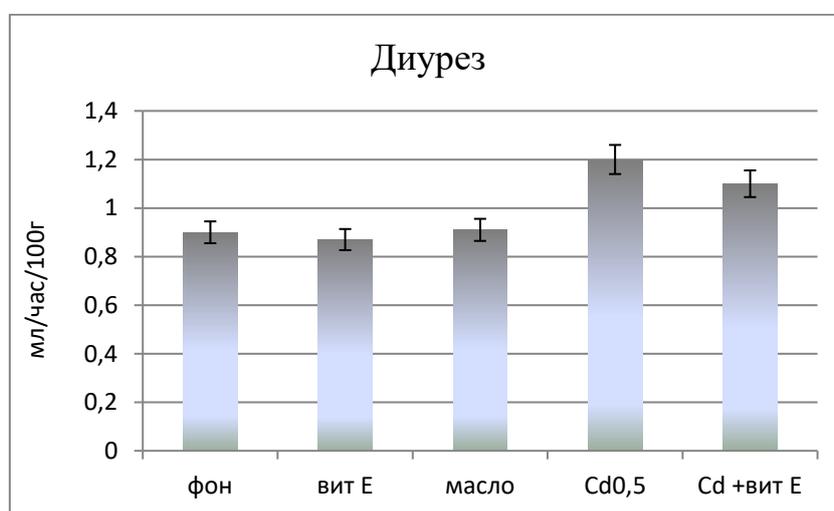


Рис. 1. Изменение диуреза под влиянием введения витамина Е в условиях кадмиевой интоксикации (вит. Е – введение витамина Е; масло – введение подсолнечного масла 0,2 мл/100 г; Cd 0,5 – введение сульфата кадмия в дозе 0,5 мг/кг; Cd+вит. Е – введение сульфата кадмия (0,5 мг/кг) и витамина Е

При этом отмечалось некоторое повышение ($p < 0,05$) канальцевой реабсорбции воды по сравнению с показателями животных с хронической заправкой кадмиевой солью, однако

следует заметить, что и скорость клубочковой фильтрации у животных этой группы также увеличивалась (рис. 2).

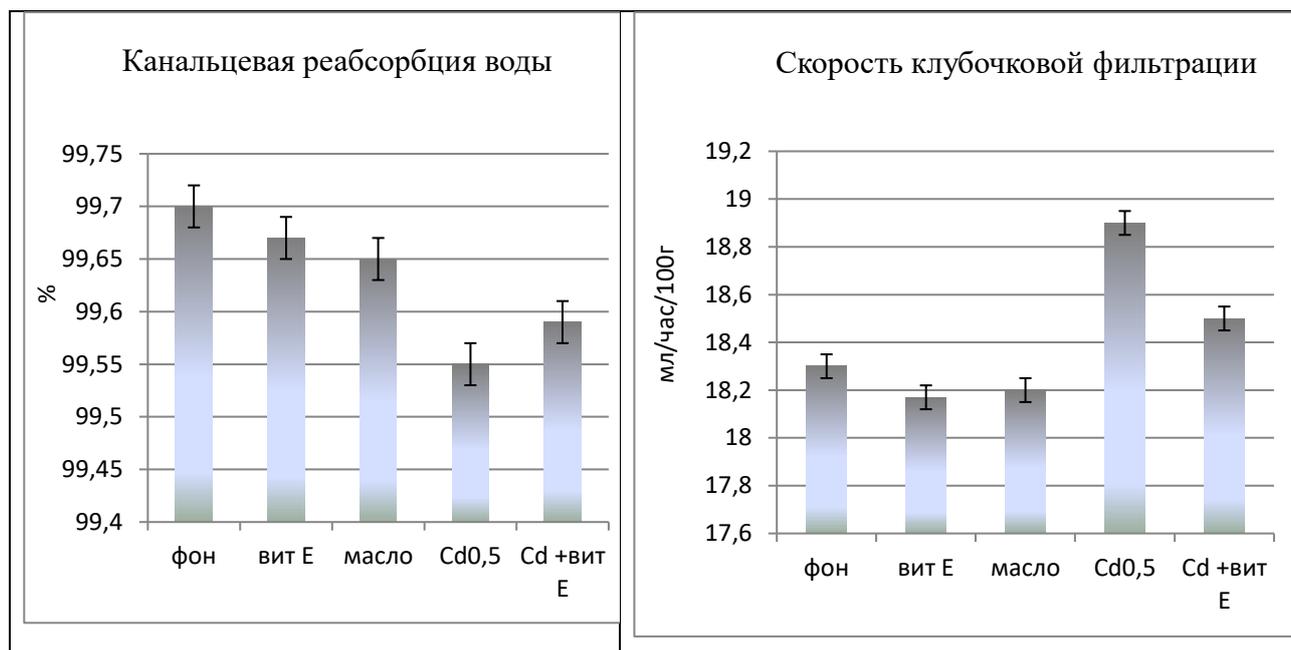


Рис. 2. Изменение основных процессов мочеобразования под влиянием введения витамина Е в условиях кадмиевой интоксикации (вит. Е – введение витамина Е; масло – введение подсолнечного масла 0,2 мл/100 г; Cd 0,5 – введение сульфата кадмия в дозе 0,5 мг/кг; Cd+вит. Е – введение сульфата кадмия (0,5 мг/кг) и витамина Е

В обеих группах контроля с применением витамина Е и подсолнечного масла достоверных изменений в электролитывыделительной функции почек не наблюдалось. Внутрижелудочное введение крысам раствора сульфата кадмия вызвало резкое увеличение экскреции с мочой калия, натрия и кальция. В условиях кадмиевой интоксикации введение токоферола ацетата отразилось на экскреции ионов, приводя к уменьшению ($p < 0,001$) относительно значений у крыс с применением только сульфата кадмия экскреции почками этих электролитов (табл. 2).

Таблица 2

Влияние витамина Е на экскрецию электролитов

при внутрижелудочном введении сульфата кадмия

| | Стат. показатель | Э Са | Э Na | Э К |
|-----------|------------------|-----------------|------------|-----------|
| | | мкмоль/час/100г | | |
| Фон | M±m | 0,22±0,002 | 12,45±0,01 | 5,77±0,08 |
| Витамин Е | M±m | 0,2±0,06 | 12,5±0,09 | 5,92±0,13 |

| | | | | |
|--------------------------------|-----|------------|------------|-----------|
| | Р | | | |
| Подс. масло | M±m | 0,21±0,009 | 12,41±0,08 | 5,98±0,07 |
| | Р | | | |
| CdSO ₄ 0,5 мг/кг | M±m | 0,31±0,004 | 14,2±0,06 | 8,12±0,08 |
| | Р | *) | *) | *) |
| Cd+вит.Е | M±m | 0,24±0,004 | 13,2±0,11 | 7,3±0,05 |
| | Р | *)**) | *)**) | *)**) |

Примечание. *) – к фоновым значениям; **) – к значениям в группах с изолированным введением сульфата кадмия; вит. Е – введение витамина Е; масло – введение подсолнечного масла 0,2 мл/100 г; Cd 0,5 – введение сульфата кадмия в дозе 0,5 мг/кг; Cd+вит.Е – введение сульфата кадмия (0,5 мг/кг) и витамина Е.

Введение витамина Е и подсолнечного масла не изменило относительно фоновых значений выведение белка с мочой. Интрагастральное введение соли кадмия крысам на протяжении месяца привело к увеличению экскреции белка относительно фоновых значений почти в 2,5 раза. А использование сульфата кадмия на фоне внутрижелудочного введения токоферола ацетата значительно снизило ($p < 0,001$) уровень протеинурии по сравнению с группой опытных животных с изолированным использованием соли кадмия (рис. 3).

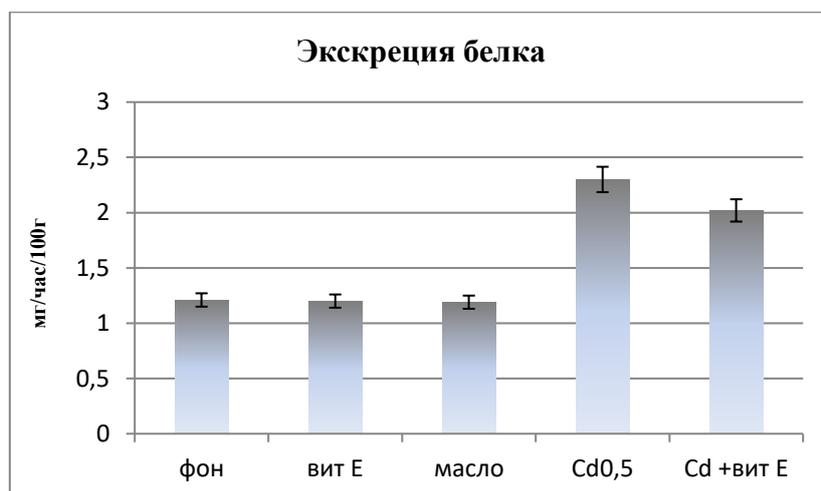


Рис. 3. Изменение экскреции белка под влиянием введения витамина Е на фоне кадмиевой интоксикации (вит. Е – введение витамина Е; масло – введение подсолнечного масла 0,2 мл/100 г; Cd 0,5 – введение сульфата кадмия в дозе 0,5 мг/кг; Cd+вит. Е – введение сульфата кадмия (0,5 мг/кг) и витамина Е

Выводы

Таким образом, можно заключить, что:

- 1) введение крысам витамина Е не изменяет функциональной активности почек у крыс, не влияет на диурез и основные процессы мочеобразования;
- 2) токоферола ацетат не изменяет ПОЛ, но способствует активации ферментов антиоксидантной защиты;

- 3) введение подсолнечного масла не изменяет процессы мочеобразования и диурез у опытных животных;
- 4) контрольное использование подсолнечного масла у животных не вызывает изменения ПОЛ и системы АОЗ клеток;
- 5) кадмиевая интоксикация в течение месяца вызывает полиурию, протеинурию и увеличение экскреции электролитов с мочой, приводит к активации процессов липопероксидации и угнетению ферментной активности клеточной системы защиты;
- 6) дополнительное введение витамина Е на фоне использования сульфата кадмия способствует уменьшению относительно значений в группе с изолированным применением соли кадмия степени выраженности полиурии и протеинурии, уменьшению выведения электролитов и белка с мочой;
- 7) в условиях кадмиевой интоксикации применение витамина Е приводит на фоне снижения процессов ПОЛ к активации ферментов АОЗ клеток;
- 8) использование витамина Е в качестве профилактического средства кадмиевой интоксикации у крыс требует дальнейшего исследования.

Список литературы

1. Бузоева М.Р. Влияние мелаксена на функциональное состояние почек в условиях кадмиевой интоксикации на фоне гиперкальциемии // Вестник новых мед. технологий. 2019. № 3. С. 45-50.
2. Искра Р.Я., Янович В.Г. Влияние хлорида хрома на перекисное окисление липидов и активность антиоксидантной защиты в тканях крыс // Биомедицинская химия. 2012. Т. 58. Вып. 4. С. 423-427.
3. Узбеков М.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях. Сообщение IV // Социальная и клиническая психиатрия. 2016. Т. 26. № 3. С. 65-66.
4. Oganessian D.Kh., Brin V.B., Kabisov O.T. Low doses of zinc chloride decrease the activation of lipid peroxidation and the hemodynamic effects of toxic doses of cobalt small doses of zinc attenuate the effects of cobalt in rats. Natural volatiles and essential oils. 2021. Vol. 8 (4). P. 7069-7076.
5. Moigan Heydari, Massumah Ahmadsadeh, Kambiz ahmadi Angali. Ameliorative effect of vitamin E on trichloroethylene induced nephrotoxicity in rats. J. Nephrothol. 2017. Vol. 6 (3). P. 169-173.