

## Влияние металлотоксикоза и вибрационного стресса на состояние углеводного обмена в организме мышей

*М.А. Дерхо, д.б.н., профессор, Т.И. Середа, к.б.н., ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ*

Изменение состояния окружающей среды в промышленных регионах России побуждает проводить интенсивное изучение воздействия экологических факторов на биологические объекты. В Челябинской области приоритетной группой экотоксикантов считаются тяжёлые металлы и, в частности, кадмий. Установлено, что в основе токсического действия кадмия на организм животных лежит его способность активировать реакции окисления с последующим развитием оксидативного стресса, для которого характерно разобщение процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [1]. Метаболический статус, формирующийся в условиях оксидативного стресса, определяет характер реализации физиологических, иммунных, эндокринных, биохимических и ментальных функций организма животных [2–4], а также его адаптационных возможностей.

Установлено, что процессы биохимической адаптации, развивающиеся в организме животных после воздействия разнообразных стресс-факторов, протекают в две стадии. Первая – стадия срочной адаптации (продолжительность – минуты/часы), характеризуется быстрой мобилизацией поверхностных адаптационных резервов организма в условиях гипоксии. Хотя по направленности биохимических процессов она является катаболической, но в живом организме развивается гипо-энергетическое состояние. Вторая – стадия долгосрочной адаптации, состоит из двух фаз. 1-я фаза по сути протекающих в организме биохимических процессов тоже является катаболической, идёт за счёт сверхмобилизации легкодоступных адаптационных резервов, что помогает, во-первых, купировать неблагоприятные метаболические сдвиги после действия стресс-факторов и, во-вторых, создаёт основу для наступления второй фазы стадии долгосрочной адаптации – анаболической. В анаболическую фазу процессы синтеза преобладают над процессами распада, обменные реакции протекают в основном в аэробных условиях, что сказывается на их энергоэффективности [5, 6].

Срочная и долговременная адаптация – это два этапа одного и того же процесса, обеспечивающего надёжное приспособление организма к действию стресс-факторов [3].

Однако в организме старых или ослабленных животных мобилизация и сверхмобилизация легкодоступных адаптационных резервов не всегда сопровождается купированием действия стресс-фактора, что может привести к обострению скрытых патологий, а также появлению новых. При этом очень

часто действие одних стресс-факторов наслаивается на влияние других, что сказывается на формировании адаптационной стратегии в организме.

Исходя из того, что действие экотоксикантов, как постоянных факторов окружающей среды, сочетается с влиянием других стресс-факторов, мы изучили совместное влияние вибрации (физический фактор) и сульфата кадмия (химический фактор) на состояние углеводного обмена в организме мышей.

**Материал и методы исследования.** Экспериментальная часть работы выполнена на базе вивария и кафедры органической, биологической и физколлоидной химии ФГБОУ ВО Южно-Уральского ГАУ в 2014 г. Объектом исследования были половозрелые мыши-самцы с исходной массой 23–25 г, которых содержали в стандартных условиях вивария. Они получали воду и корм без ограничения.

Для проведения эксперимента было сформировано две группы по 32 особи в каждой: I – контрольная, II – опытная. Животным II гр. добавляли в корм сульфат кадмия в дозе 30 мг на голову в течение 3 сут. По истечении 3-суточной кадмиевой затравки мышей всех групп подвергли вибрационному воздействию на шуттель-аппарате при частоте механических движений 120 в мин. в течение 2 час.

Материалом исследований служила кровь, которую получали утром путём декапитации мышей, выполняемой под наркозом эфира с хлороформом с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Кровь брали до и через 3 сут. кадмиевого токсикоза, а также через 1 и 24 час. после вибрационного воздействия.

В крови и плазме крови определяли глюкозу, лактат спектрофотометрически, лактатдегидрогеназу (ЛДГ) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу (Г-6-ФДГ) кинетически с использованием наборов реактивов «Экосервис» и «Humman».

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики на ПК с помощью табличного редактора «Microsoft Excel-2003» и пакета прикладной программы «Биометрия». Для оценки достоверности различий сравниваемых средних между малыми выборками использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Нулевую гипотезу отвергали при  $P < 0,05$ .

**Результаты исследования.** На первом этапе исследования было изучено влияние сульфата кадмия на состояние углеводного обмена в организме мышей. Установили, что на фоне металлотоксикоза в крови животных увеличивалось содержание глюкозы (табл. 1),

1. Показатели крови мышей при кадмиевом токсикозе (n=8; X±Sx)

Показатель	Группа			
	I		II	
	до токсикоза	ч/з 3 сут. токсикоза	до токсикоза	ч/з 3 сут. токсикоза
Глюкоза, ммоль/л	4,37±0,29	4,50±0,32	4,40±0,27	6,93±0,21*
Лактат, ммоль/л	3,08±0,06	3,28±0,07	3,05±0,04	6,62±0,11*
ЛДГ, Е/л	90,83±7,74	88,16±5,85	87,33±2,72	218,92±7,33*
$\frac{\text{Глюкоза}}{\text{Лактат}}$ , усл. ед.	1,42±0,10	1,37±0,13	1,44±0,09	1,04±0,013*
Г-6-ФДГ, Е/л	67,63±1,08	65,92±2,09	57,33±2,37	88,86±1,59*
$\frac{\text{Глюкоза}}{\text{Г-6-ФДГ}}$ , усл. ед.	0,06±0,052	0,07±0,006	0,077±0,003	0,076±0,001

Примечание: \* – P<0,05 по сравнению с величиной до токсикоза

Считаем, что кадмий, введённый в организм мышей *per os* (II гр.), выступал в роли стресс-фактора, воздействовал на центральную нервную и гипоталамо-гипофиз-адреналовую системы, что отражалось на интенсивности процессов глюконеогенеза, фосфолиза гликогена и гликолиза и соответственно уровне глюкозы в крови. Наше предположение согласуется с данными других авторов, отмечавших способность солей кадмия оказывать стрессовое воздействие на животных за счёт избыточного образования активных метаболитов кислорода [1, 7 – 10].

На фоне кадмиевой интоксикации в организме мышей резко увеличивалась скорость анаэробного гликолиза, за счёт которого в крови возрастала концентрация лактата (P<0,05), активность ЛДГ (P<0,05) и снижалась величина  $\frac{\text{Глюкоза}}{\text{Лактат}}$  (P<0,05), по сравнению с уровнем до токсикоза и аналогичной величиной у животных I гр. (табл. 1). Совокупность полученных данных свидетельствовала о неспособности аэробных систем энергообеспечения обеспечивать процессы адаптации организма мышей к действию кадмия. Аналогичные данные были получены при интоксикации крыс сульфатом кадмия [11]. В крови животных повышалась концентрация глюкозы, а также метаболитов цикла трикарбоновых кислот и гликолиза. При этом животные в 3-месячном возрасте были более чувствительны к токсическому действию металла. Способность кадмия влиять на интенсивность энергетического обмена отмечена рядом авторов [4, 8]. Было установлено, что присутствие кадмия в организмах моллюсков снижало скорость гликолиза, глюконеогенеза и цикла трикарбоновых кислот, что приводило к гипоксии и снижению мышечного тонуса [2].

Кроме того, кадмиевый токсикоз инициировал повышение в плазме крови Г-6-ФДГ. У особей II гр. активность фермента возрастала по сравнению с аналогичной величиной в I гр. в 1,35 раза и до

токсикоза – в 1,54 раза, что отражалось на отно-

шении  $\frac{\text{Глюкоза}}{\text{Г-6-ФДГ}}$  (табл. 1).

Г-6-ФДГ – это лимитирующий фермент апопомического пути окисления глюкозы, способствующий накоплению в клетках организма NADPH. Биологический эффект NADPH проявляется в защите клеток крови и печени от повреждения свободным кислородом за счёт поддержания работы глутатионредуктазы [9]. Поэтому возрастание активности Г-6-ФДГ, с одной стороны, свидетельствовало об избыточном накоплении в клетках организма мышей активных форм кислорода, с другой – повышении активности глутатиона с целью снижения степени окислительного повреждения клеток.

Повышение активности Г-6-ФДГ в организме крыс наблюдали при развитии оксидативного стресса, вызванного введением хлорида кобальта [6], токсического гепатита на фоне введения тетрахлорметана [7].

Таким образом, организм животных I и II гр. до воздействия вибрации характеризовался углеводным обменом, протекающим при различном уровне оксигенации клеток и имеющим соответственно неодинаковую энергоэффективность, что определяло наличие и доступность углеводных (легкодоступных адаптационных) резервов.

На следующем этапе исследования мышья были подвергнуты вибрационному воздействию на шуттель-аппарате при частоте механических движений 120 в мин. в течение 2 час. Вибрация относится к физическим факторам и при её влиянии на животный организм развивается стресс, являющийся результатом стимуляции гипофизарно-адреналовой системы и соответственно активности окислительно-восстановительных процессов, что обусловлено сдвигами в микроциркуляции и транскапиллярном обмене, сопровождающихся нарушением поступления и утилизации кислорода в тканях и органах и развитием тканевой гипоксии

[8, 10]. Поэтому по характеру изменений концентрации углеводных метаболитов в крови мышей можно судить об уровне тканевых и клеточных повреждений после действия вибрации.

Мы установили, что после встряхивания мышей на шуттель-аппарате в их крови изменялся уровень глюкозы. При этом в крови животных I гр. её уровень превышал через 1 час величину до действия вибрации в 1,22 ( $P < 0,05$ ) и через 24 час. – в 2,18 раза ( $P < 0,001$ ), в крови аналогов II гр., наоборот, через 1 час после воздействия вибрации уровень глюкозы снижался в 1,45 ( $P < 0,001$ ) раза и только затем повышался в 1,16 раза по сравнению с исходной величиной (табл. 2).

Если исходить из того, что глюкоза крови отражает функциональное и метаболическое единство гипоталамо-гипофиз-адреналовой системы, клеток организма, в первую очередь печени и мышц (гликоген), почек (глюконеогенез) и периферических эндокринных желёз (поджелудочная железа), то после воздействия вибрации в организме мышей I гр. развивались сдвиги, характерные для стадии мобилизации и сверхмобилизации легкодоступных адаптационных резервов в ходе биохимической адаптации. При этом уровень глюкозы обеспечивался за счёт активации процессов глюконеогенеза, фосфорилиза гликогена печени и ограничения скорости внутриклеточного окислительного распада глюкозы. Катаболизм сахара протекал в условиях гипоксии и снижения интенсивности гликогеногенеза, что приводило к повышению в крови лактата и активности ЛДГ. Наблюдаемые изменения были универсальны для действия на организм животных различных стресс-факторов [5, 8].

В организме животных II гр. после наложения действия вибрации на кадмиевый токсикоз было

отмечено истощение запасов легкодоступных углеводных резервов, так как они были уже затрачены на купирование оксидативного стресса. Поэтому наступление стадии срочной и катаболической фазы долгосрочной адаптации запаздывало. При этом через 1 час после вибрационного стресса практически вся глюкоза извлекалась из кровеносного русла клетками органов и тканей и подвергалась в них гликолизу с образованием лактата. Об этом свидетельствовало отношение и увеличение его величины в 1,63 ( $P < 0,001$ ) раза по сравнению с исходным уровнем. Процессы глюконеогенеза активировались только через 24 час. после воздействия вибрации (повышение концентрации глюкозы в крови), вместе с тем ограничивалось и сгорание глюкозы в тканях организма (уменьшение уровня лактата и ЛДГ в крови) (табл. 2).

Полученные нами данные согласуются с результатами исследования об одновременном воздействии шума интенсивностью 90 дБ и ацетата свинца в дозе 50 мг/кг на организм мышей [3]. Однако при комбинированном воздействии свинца и электромагнитного излучения в крови крыс активность ЛДГ снижалась [4].

При оценке активности апотомического пути катаболизма глюкозы, маркером интенсивности которого является фермент Г-6-ФДГ, были установлены однотипные сдвиги в организме мышей всех групп. Активность Г-6-ФДГ планомерно снижалась, достигая минимума через 24 час. после действия вибрации. При этом у животных II гр. происходило более значительное ограничение скорости пенто-зофосфатного пути катаболизма глюкозы, так как концентрация фермента уменьшалась в 11,97 ( $P < 0,001$ ) раза против 5,57 ( $P < 0,001$ ) раза в I гр. За счёт этого увеличивалась величина

2. Биохимические показатели крови мышей (n=8;  $\bar{X} \pm S_x$ )

Показатель	Группа					
	До действия вибрации	I		До действия вибрации	II	
		После действия вибрации			После действия вибрации	
		через 1 час	через 24 час.		через 1 час	через 24 час
Глюкоза, ммоль/л	4,50±0,32	5,53±0,14*	9,80±0,62***	6,93±0,21	4,79±0,11***	8,02±0,08***
Лактат, ммоль/л	3,28±0,07	3,60±0,07*	3,72±0,11*	6,62±0,11	2,83±0,03***	2,47±0,13***
ЛДГ, Е/л	88,16±5,85	154,23±2,28***	204,52±1,08***	218,92±7,33	24,16±2,07***	79,43±1,17***
$\frac{\text{Глюкоза}}{\text{Лактат}}$ , усл. ед.	1,37±0,13	1,54±0,04*	2,61±0,09***	1,04±0,013	1,69±0,02***	2,99±0,09***
Г-6-ФДГ, Е/л	65,92±2,09	44,83±1,88***	11,82±0,46***	88,86±1,59	34,83±3,14***	7,42±0,26***
$\frac{\text{Глюкоза}}{\text{Г-6-ФДГ}}$ , усл. ед.	0,07±0,006	0,12±0,004	0,84±0,06***	0,076±0,001	0,15±0,018***	1,09±0,042***

Примечание: \* –  $P < 0,05$ , \*\*\* –  $P < 0,001$  по сравнению с величиной до действия вибрации

отношения. Результаты нашего опыта согласуются с данными других авторов [2]. Следовательно, при наложении действия физического на химический стресс-фактор наблюдалось потенцирование их эффектов на организм животных, что проявлялось в истощении возможности клеток накапливать NADPH и ограничивать степень их повреждения активными формами кислорода.

**Вывод.** Результаты исследований показали, что при моделировании вибрационного стресса в углеводном обмене организма мышей развиваются сдвиги, типичные для действия любого стресс-фактора, – активация гликолиза, что сопровождается накоплением молочной кислоты в сосудистом русле и повышением активности ЛДГ, умеренной гипергликемией и падением активности Г-6-ФДГ. Наложение вибрационного стресса на оксидативный вызывает метаболическую перестройку в организме животных, что задерживает развитие адаптационно-компенсаторных реакций на фоне дефицита углеводных энергосубстратов.

### Литература

1. Ткаченко Е.А., Дерхо М.А., Серeda Т.И. и др. Адаптационные изменения активности ферментов в организме мышей при оксидативном стрессе // Вестник ветеринарии. 2013. Вып. 65. С. 65–69.
2. Плященко С.И., Сидоров В.Т. Естественная резистентность организма животных. Л.: Колос, 1979. 184 с.
3. Дерхо М.А. Динамика биохимических показателей в ходе остеогенеза после травмы различных костей скелета у собак: автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М., 2004. 32 с.
4. Кавтарашвили А.Ш., Колокольникова Т.Н. Физиология и продуктивность птицы при стрессе // Сельскохозяйственная биология. 2010. № 4. С. 52–59.
5. Ткаченко Е.А., Дерхо М.А., Романкевич О.А. и др. Характеристика печёночной ферментемии в условиях кадмиевой интоксикации // Вестник НГАУ. 2014. Т. 1. № 30. С. 96–99.
6. Иванова В.П. К вопросу о механизме токсического действия кадмия на живые организмы // Материалы II междунар. науч. конф. Саранск: Мордовия-ЭКСПО, 2009. С. 58–61.
7. Киреев Р.А. Влияние ионов кадмия на свободнорадикальные процессы и активность Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФ-азы в тканях крыс // Токсикологический вестник. 2005. № 4. С. 12–15.
8. Павиченко О.В., Калиман П.А. Влияние хлорида кадмия на развитие оксидативного стресса в лёгких крыс // Сучасні проблеми токсикології. 2003. № 3. С. 40–46.
9. Шепелева И.А., Деркач Е.А., Мельникова Н.Н. Влияние сульфата кадмия на углеводный обмен в организме крыс разного возраста // Украинский биохимический журнал. 2007. № 2. С. 62–68.
10. Хижнева О.А., Дерхо М.А., Серeda Т.И. Особенности активности Г-6-ФДГ в организме мышей при сочетании оксидативного и вибрационного стресса // Инновационные процессы в научной среде: сб. ст. Междунар. науч.-практич. конф. Уфа: Аэтерна, 2014. 152 с.
11. Хижнева О.А., Дерхо М.А., Серeda Т.И. Ферменты крови животных, подвергнутых комбинированному воздействию сульфата кадмия и вибрации // Актуальные проблемы научной мысли: сб. ст. Междунар. науч.-практич. конф. Уфа: Аэтерна, 2014. 188 с.