

А. В. Мельник, В. В. Піліпонова, К. М. Агафонов

Вплив омега-3 поліненасичених жирних кислот на показники оксидативного стресу в мозку щурів за свинцевої інтоксикації

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

Ключові слова: омега-3 поліненасичені жирні кислоти, свинцева інтоксикація, оксидативний стрес, мозок

За даними ВООЗ та інших міжнародних організацій одним з глобальних забруднювачів довкілля є свинець та його сполуки, що входить до переліку десяти найнебезпечніших хімічних речовин у світі та викликає необоротні зміни в організмі людини. Дослідження останніх років підтверджують, що вплив свинцю на дорослих настільки великий, що понад 900 000 передчасних смертей на рік пов'язані саме з підвищенням його концентрації [1–3]. Незважаючи на достатньо широкий обсяг виконаних досліджень, до цього часу тривають дискусії щодо його токсичної дії як екологічного та професійного токсиканту [4]. Свинець має унікальні фізичні та хімічні властивості, що сприяло широкому використанню людиною ще з давніх історичних часів та одночасно сприяло легкому розповсюдженню та забрудненню навколишнього середовища. У середньому кожний житель Європи та США поглинає 0,3 мг свинцю щоденно: 30–45 % надходить з їжею, 30 % – з пилом; 10–20 % – з питною водою й 5–20 % – з повітрям [5]. Цей небезпечний поллютант належить до отрут з політропним механізмом, викликає розвиток вроджених вад, нейропсихічних порушень, серцево-судинні та цереброваскулярні захво-

рювання [6, 7]. Одним з провідних токсичних ефектів свинцю є згубний вплив на нервову систему. Нейротоксичність свинцю пов'язана з його здатністю проникати через гематоенцефалічний бар'єр і накопичуватися в різних відділах нервової системи, які збагачені ліпідами [8]. В основі нейротоксичного впливу свинцю на організм лежать наступні зміни, а саме, пригнічення антиоксидантного захисту та розвиток окиснювального стресу, який супроводжується активацією процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і протеїнів мембран клітин. Свинець утворює з L-цистеїном тіоловий комплекс, який захоплюється гліальними клітинами й нейронами, що супроводжується їхнім пошкодженням. Тривалий вплив свинцю викликає розлади синаптичної передачі в нейронах за рахунок порушення обміну кальцію в клітинах. Поряд з цим реєструється зниження рівнів нейромедiatorів дофаміну та серотіну. Нейротоксична дія свинцю реалізується також через витіснення цинку зі сполук, що збагачені тіоловими групами, які попереджують апоптотичну загибель клітин [5, 8].

Таким чином, дослідження механізмів токсичного впливу свинцю на нервову систему є актуальною та до кінця невирішеною проблемою, що до певної міри стримує розробку ефективних засобів фармакологічної корекції. Останнім часом встановлено наявність нейропротективних

© Колектив авторів, 2022

властивостей в омега-3 поліненасичених жирних кислот, які реалізуються через різноманітні молекулярні механізми [9]. У той самий час залишається невивченим питання впливу омега-3 поліненасичених жирних кислот на показники оксидативного стресу в мозку та сироватці крові щурів за свинцевої інтоксикації.

Мета дослідження – експериментальне обґрунтування доцільності використання омега-3 поліненасичених жирних кислот для корекції процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і протеїнів у мозку щурів за свинцевої інтоксикації.

Матеріали та методи. Експеримент проведено на 24 статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 250–280 г. Щури знаходились на стандартному раціоні віварію Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Усі етапи дослідження виконані згідно з рекомендаціями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986 р.).

Свинцеву інтоксикацію ініціювали в 16 щурів шляхом інтрагастрального введення плюмбуму (II) ацетату на 1 % крохмалі (у дозі 7,5 мг/кг маси тіла 1 раз/добу протягом 14 діб). Частиці тварин (8 щурів), яким ініціювали свинцеву інтоксикацію, інтрагастрально вводили омега-3 поліненасичені жирні кислоти (O.N.E.TM Omega) на 1 % крохмалі в дозі 750 мг/кг маси тіла 1 раз/добу протягом 14 діб. Дози, шляхи та тривалість введення речовин були запозичені з літератури при проведенні подібних досліджень [10]. Контрольна група тварин протягом 14 діб отримувала інтрагастрально еквівалентну кількість розчинника (1 % розчин крохмалю з розрахунку 1 мл на 100 г маси щура). На 15 добу

тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під кетаміновим наркозом.

Біохімічні дослідження виконані на базі науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (свідчення МОЗ України про переатестацію від 02.03.2015 № 049/15). Для дослідження використовували сироватку крові та пост'ядерний супернатант мозку. Мозок перфузували холодним 1,15 % розчином KCl і гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі 1,15 % KCl (співвідношення 1:3). Гомогенати центрифугували упродовж 30 хв при 600 g, відбирали аліквоти пост'ядерного супернатанту в мікропробірці Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при – 20 °С. Активність супероксиддисмутази (СОД) оцінювали за відсотком гальмування окиснення кверцетину [11], активність каталази – за швидкістю деградації гідроген пероксиду в реакції з амоній молібдатом [12] спектрофотометричними методами. Уміст загального білка визначали мікробіуретовим методом з реактивом Бенедикта [13], малонового діальдегіду – за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [14], карбонільних груп протеїнів – за реакцією з 2,4-динітрофенілгіdraзином [15] спектрофотометричними методами.

Статистичну обробку проводили за допомогою SPSS22 for Windows. Результати наведено як $M \pm m$. Для оцінки відмінностей показників застосовували параметричний t-критерій Ст'юдента (за нормального розподілу) або непараметричний критерій U Манна-Уїтні (у разі відхилення від нормального розподілу) [16].

Результати та їх обговорення. Свинцева інтоксикація в щурів

супроводжується зменшенням швидкості знешкодження супероксидного аніон-радикалу за участю СОД у мозку та сироватці крові відповідно на 28 та 31,3 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою (табл. 1). Поряд з цим реєструється сповільнення утилізації гідроген пероксиду каталазою відповідно на 30 та 35,8 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи. Застосування омега-3 поліненасичених жирних кислот на тлі свинцевої інтоксикації зменшує депримуєчий вплив високих концентрацій свинцю на активність антиоксидантних ферментів. За цих умов відмічається перевищення активнос-

ті СОД на 19,2 і 27,4 %, а каталази – на 22,7 і 30 % ($p < 0,05$) відповідно в мозку та крові щурів, порівняно з показниками нелікованих тварин.

Введення щурам плюмбуму (II) ацетату супроводжується посиленням процесу перекисної деструкції ліпідів біомембран, про що доказово свідчить збільшення вмісту малонового діальдегіду (МДА) у мозку та крові тварин відповідно на 41,7 та 51 % порівняно з контрольною групою (табл. 2). Також у цих тварин збільшувалась інтенсивність окисної деградації протеїнів клітинних мембран, доказом чого є зростання рівня карбонільних груп протеїнів (КГП) відповідно на

Таблиця 1

Активність антиоксидантних ферментів у мозку та крові щурів на тлі свинцевої інтоксикації та за умов корекції ($M \pm m, n = 8$)

| Група тварин | Супероксиддисмутаза | | Каталаза | |
|--|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|------------------|
| | мозок, у. о./мг протеїну | кров, у. о./мл | мозок, мккат/мг протеїну | кров, мккат/л |
| Контрольна група | 2,39 ± 0,10 | 56,30 ± 1,41 | 6,04 ± 0,26 | 1,51 ± 0,06 |
| Свинцева інтоксикація | 1,72 ± 0,11* | 38,70 ± 1,35* | 4,23 ± 0,21* | 0,97 ± 0,07* |
| Свинцева інтоксикація + Омега-3 поліненасичені жирні кислоти | 2,05 ± 0,09*.# | 49,30 ± 1,44*.# | 5,19 ± 0,28*.# | 1,26 ± 0,08*.# |

Примітка. Тут і в табл.* $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою,
$p < 0,05$ порівняно з групою «Свинцева інтоксикація».

Таблиця 2

Уміст продуктів перекисного окиснення ліпідів і протеїнів у мозку та крові щурів на тлі свинцевої інтоксикації та за умов корекції ($M \pm m, n = 8$)

| Група тварин | Малоновий діальдегід | | Карбонільні групи протеїнів | |
|--|---------------------------------|-------------------|--------------------------------|------------------|
| | мозок, мкмоль/мг протеїну | кров, мкмоль/л | мозок, нмоль/мг протеїну | кров, нмоль/л |
| Контрольна група | 12,0 ± 0,88 | 4,55 ± 0,11 | 4,21 ± 0,13 | 44,20 ± 1,36 |
| Свинцева інтоксикація | 17,0 ± 0,40* | 6,87 ± 0,24* | 6,10 ± 0,22* | 77,70 ± 1,66* |
| Свинцева інтоксикація + Омега-3 поліненасичені жирні кислоти | 14,20 ± 0,42*.# | 4,70 ± 0,21*.# | 4,85 ± 0,10*.# | 50,70 ± 1,54*.# |

44,9 і 75,8 %, порівняно з контрольною групою. Застосована фармакотерапія сповільнювала швидкість перебігу процесів пероксидації ліпідів і протеїнів: уміст МДА й КГП у мозку та крові був меншим на 16,6–34,8 %, ніж у нелікованих тварин.

Проведені дослідження засвідчили, що інтоксикація тварин іонами Pb^{2+} спричиняє зменшення активності антиоксидантних ферментів СОД і каталази в мозку та крові, що супроводжується накопиченням реактивних кисневих дериватів та інтенсифікацією перекисного окиснення ліпідів і протеїнів клітинних мембран. Виникає питання щодо молекулярних механізмів індукції оксидативного стресу на тлі свинцевої інтоксикації. Високі концентрації свинцю стимулюють продукцію активних форм кисню, що пов'язують з порушенням роботи електронотранспортного дихального ланцюга, а також накопиченням δ -амінолевулінової кислоти внаслідок інгібування δ -амінолевулінатдегідратази [17]. Поряд з цим, високі рівні свинцю впливають на ферментативну та неферментативну ланки антиоксидантного захисту. Так, за свинцевої інтоксикації зменшуються запаси відновленого глутатіону та знижується активність антиоксидантних ензимів (СОД, глутатіонпероксидази, каталази), що асоціюється з ковалентною модифікацією сульфгідрильних груп активних центрів під впливом іонів Pb^{2+} [18].

Застосування тваринам омега-3 поліненасичених жирних кислот зменшує Pb^{2+} -ініційований дисбаланс антиоксидантних ферментів і має депримууючий вплив на активність вільнорадикаль-

ного окиснення ліпідів і протеїнів у мозку щурів. У літературі також є свідчення, що використання омега-3 поліненасичених жирних кислот виявляє нейропротективну дію за різноманітних нейродегенеративних захворювань і неврологічних порушень [19]. Вважають, що нейропротективна дія омега-3 поліненасичених жирних кислот асоціюється з їхньою антиоксидантною, протизапальною, антиагрегантною, антиапоптотичною, цитопротекторною діями, а також з впливом на синапто- та нейрогенез [9].

Проведені дослідження обґрунтовують можливість використання омега-3 поліненасичених жирних кислот з метою корекції оксидативного балансу в мозку щурів за умов свинцевої інтоксикації. Подальші дослідження в цьому напрямі дозволять поглибити існуючі уявлення щодо механізмів нейропротекторної дії омега-3 поліненасичених жирних кислот і отримати докази необхідності та доцільності їхнього використання за свинцевої інтоксикації.

Висновки

Тривале введення плюмбуму (II) ацетату у великих дозах спричиняє зменшення активності антиоксидантних ензимів СОД і каталази, що супроводжується збільшенням активності процесів окисної модифікації білків і ліпідів у мозку та сироватці крові щурів. Застосування омега-3 поліненасичених жирних кислот за цих умов збільшує антиоксидантний потенціал мозку й сироватки крові та сповільнює перебіг процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і протеїнів.

1. Ткачишин В. С. Інтоксикації свинцем і його неорганічними сполуками. *Медицина невідкладних станів*. 2021. Т. 17 (4). С. 6–12. <https://doi.org/10.22141/2224-0586.17.4.2021.237721>.
2. United Nations International Children's Emergency Fund. The toxic truth: children's exposure to lead pollution undermines a generation of future potential. 2020. URL: <https://www.unicef.org/reports/toxic-truth-childrens-exposure-to-lead-pollution-2020>.
3. World Health Organization. Exposure to lead: a major public health concern. 2019. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329953/WHO-CED-PHE-EPE-19.4.7-eng.pdf?ua=1>.
4. Gidlow D. A. Lead toxicity. *Occup. Med. (Lond.)*. 2015. V. 65 (5). P. 348–356. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqv018>.
5. Wani A. L., Ara A., Usmani J. A. Lead toxicity: a review. *Interdiscip. Toxicol.* 2015. V. 8 (2). P. 55–64. <https://doi.org/10.1515/intox-2015-0009>.
6. Blood lead concentration and its associated factors in preschool children in eastern Iran: a cross-sectional study. M. Zardast, S. S. Khorashadi-Zadeh, S. Nakhaee et al. *BMC Pediatr.*, 2020. V. 20. P. 435. <https://doi.org/10.1186/s12887-020-02302-7>.
7. Blood lead levels in low-income and middle-income countries: a systematic review. B. Ericson, H. Hu, E. Nash et al. *The Lancet Planetary Health*. 2021. V. 5 (3). P. 145–153. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(20\)30278-3](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(20)30278-3).
8. Lead exposure is associated with functional and microstructural changes in the healthy human brain. H. Takeuchi, Y. Taki, R. Nouchi et al. *Commun. Biol.* 2021. V. 4. P. 912. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02435-0>.
9. Novel approaches for omega-3 fatty acid therapeutics: chronic versus acute administration to protect heart, brain, and spinal cord. H. Zirpoli, C. L. Chang, Y. A. Carpentier et al. *Ann. Rev. Nutr.* 2020. V. 23 (40). P. 161–187. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-082018-124539>.
10. Attenuation of lead-induced neurotoxicity by omega-3 fatty acid in rats. P. Kumar Singh, M. Kumar Singh, R. Singh Yadav et al. *Ann. Neurosci.* 2018. V. 24 (4). P. 221–232. <https://doi.org/10.1159/000481808>.
11. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопр. мед. химии*. 1990. № 2. С. 88–91.
12. Метод определения активности каталазы. М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев. *Лаб. дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
13. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. Высшая школа, 1980. 272 с.
14. Владимиров Ю. В., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. Наука, 1972. 252 с.
15. Пат. України на винахід № 58110А, МПК 7 А61К35/16. Спосіб визначення карбонільних сполук в сироватці крові. С. В. Шевчук, О. О. Пентюк, Р. А. Мусін, Н. В. Заїчко; заявник та патентовласник Український державний НДІ реабілітації інвалідів МОЗ України. № 2002107890; заявл. 04.10.2002; опубл. 15.07.2003; Бюл. № 7. 2 с.
16. Біостатистика: підручник: за заг. ред. Т. С. Грузевої. Т. С. Грузева, В. М. Лехан, В. А. Огнев та ін. Вінниця : Нова Книга, 2020.
17. The detrimental effects of lead on human and animal health. M. A. Assi, M. N. Hezmee, A. W. Haron et al. *Vet. World*. 2016. V. 9 (6). P. 660–671. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.660-671>.
18. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. M. Balali-Mood, K. Naseri, Z. Tahergerabi et al. *Front. Pharmacol.* 2021. V. 13, 12. P. 643972. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972>.
19. Dyall S. C. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front. Aging. Neurosci.* 2015. V. 21, 7. P. 52. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00052>.

А. В. Мельник, В. В. Піліпонова, К. М. Агафонов

Вплив омега-3 поліненасичених жирних кислот на показники оксидативного стресу в мозку щурів за свинцевої інтоксикації

Мета дослідження – експериментально обґрунтувати доцільність використання омега-3 поліненасичених жирних кислот для корекції процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і протеїнів у мозку щурів за свинцевої інтоксикації.

Дослідження виконано на 24 статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 250–280 г. Тварини були поділені на три групи: 1 група – контроль; 2 група – тварини зі свинцевою інтоксикацією, яку моделювали шляхом інтрагастрального введення плюмбуму (II) ацетату (7,5 мг/кг/добу протягом 14 діб); 3 група – тварини зі свинцевою інтоксикацією, які протягом 14 діб отримували лікування омега-3 поліненасиченими жирними кислотами (750 мг/кг/добу, інтрагастрально). У гомогенаті мозку та сироватці крові спектрофотометричним методом визначали активність антиоксидантних ензимів супер-

оксиддисмутази та каталази, а також рівні малонового діальдегіду й карбонільних груп протеїнів.

Встановлено, що за тривалого введення плюмбуму (II) ацетату реєструється зменшення активності супероксиддисмутази та каталази на 28–35,8 % ($p < 0,05$), що супроводжується збільшенням вмісту малонового діальдегіду та карбонільних груп протеїнів у мозку та сироватці крові щурів на 41,7–75,8 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. За цих умов використання омега-3 поліненасичених жирних кислот викликає збільшення антиоксидантного потенціалу мозку та сироватки крові (активності супероксиддисмутази та каталази на 19,2–30 % ($p < 0,05$) перевищують показники нелікованих тварин) та сповільнення перебігу процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і протеїнів (рівні малонового діальдегіду та карбонільних груп протеїнів були меншими на 16,6–34,8 % ($p < 0,05$), ніж у нелікованих тварин).

Отримані дані обґрунтовують можливість використання омега-3 поліненасичених жирних кислот з метою корекції оксидативного стресу в мозку щурів за умов свинцевої інтоксикації.

Ключові слова: омега-3 поліненасичені жирні кислоти, свинцева інтоксикація, оксидативний стрес, мозок

А. В. Мельник, В. В. Пилипонова, К. М. Агафонов

Влияние омега-3 полиненасыщенных жирных кислот на показатели оксидативного стресса в мозге крыс при свинцовой интоксикации

Цель исследования – экспериментально обосновать целесообразность использования омега-3 полиненасыщенных жирных кислот для коррекции процессов свободнорадикального окисления липидов и протеинов в мозге крыс при свинцовой интоксикации.

Исследование выполнено на 24 половозрелых нелинейных крысах-самцах массой 250–280 г. Животные были поделены на три группы: 1 группа – контроль; 2 группа – животные со свинцовой интоксикацией, которую моделировали путем интрагастрального введения плюмбума (II) ацетата (7,5 мг/кг/сут. в течение 14 суток); 3 группа – животные со свинцовой интоксикацией, которые в течение 14 суток получали лечение омега-3 полиненасыщенными жирными кислотами (750 мг/кг/сут., интрагастрально). В гомогенате мозга и сыворотке крови спектрофотометрическим методом определяли активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутази и каталазы, а также уровни малонового диальдегида и карбонильных групп протеинов.

Установлено, что при длительном введении плюмбума (II) ацетата регистрируется уменьшение активности супероксиддисмутази и каталазы на 28–35,8 % ($p < 0,05$), что сопровождается увеличением содержания малонового диальдегида и карбонильных групп протеинов в мозге и сыворотке крови крыс на 41,7–75,8 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. При этих условиях использование омега-3 полиненасыщенных жирных кислот вызывает увеличение антиоксидантного потенциала мозга и сыворотки крови (активность супероксиддисмутази и каталазы на 19,2–30 % ($p < 0,05$) превышает показатели нелеченных животных) и уменьшает интенсивность процессов свободнорадикального окисления липидов и протеинов (уровни малонового диальдегида и карбонильных групп протеинов были меньше на 16,6–34,8 % ($p < 0,05$), чем у нелеченных животных).

Полученные данные обосновывают возможность использования омега-3 полиненасыщенных жирных кислот с целью коррекции оксидативного стресса в мозге крыс при свинцовой интоксикации.

Ключевые слова: омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты, свинцовая интоксикация, оксидативный стресс, мозг

A. V. Melnyk, V. V. Piliponova, K. M. Ahafonov

Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on oxidative stress markers in the brain of rats with lead intoxication

The aim of the study is to substantiate experimentally the expediency of omega-3 polyunsaturated fatty acids use for correction of free radical oxidation of lipids and proteins in the brain of rats with lead intoxication.

The study was carried out on 24 mature non-linear male rats weighing 250–280 g. The animals were randomly divided into three groups: group 1 – control; group 2 – animals with lead intoxication, modeled by intragastric administration of lead (II) acetate (7.5 mg/kg/day for 14 days); group 3 – animals with lead intoxication, which were treated with omega-3 polyunsaturated fatty acids (750 mg/kg/day, intragastrically) for 14 days. The activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase and catalase as well as the levels of malondialdehyde and protein carbonyl groups were determined in brain homogenate and blood serum using the spectrophotometric method.

Results of this study showed that the long-term administration of lead (II) acetate led to decrease of superoxide dismutase and catalase activities by 28–35.8 % ($p < 0,05$), which was accompanied by an increase malondialdehyde and protein carbonyl groups contents in brain and blood serum of rats by 41.7–75.8 % ($p < 0,05$), compared to the control. Under these conditions, the use of omega-3 polyunsaturated fatty acids causes an increase antioxidant potential of brain and blood serum (activities of superoxide dismutase and catalase were by 19.2–30 % ($p < 0.05$) higher than those of untreated animals)

and reduces free radical oxidation of lipids and proteins (the levels of malondialdehyde and protein carbonyl groups were lower by 16.6–34.8 % ($p < 0.05$) than in untreated animals).

Our findings clearly indicate the possibility of using omega-3 polyunsaturated fatty acids for the purpose of oxidative stress correction in brain of rats under lead intoxication.

Key words: omega-3 polyunsaturated fatty acids, lead intoxication, oxidative stress, brain

Надійшла: 6 липня 2022 р.

Прийнята до друку: 26 жовтня 2022 р.

Контактна особа: Мельник Андрій Володимирович, доктор медичних наук, професор, кафедра біологічної та загальної хімії, Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел.: + 38 0 93 670 27 08.
Електронна адреса: anderneting@gmail.com