

DOI: <https://doi.org/10.34921/amj.2024.3.020>**EKSPERİMENTAL ATEROSKLEROZ FONUNDA MÜXTƏLİF AĞIR METALLARLA
XRONİK İNTOKSIKASIYA ZAMANI OKSIDLƏŞDİRİCİ STRESS PROSESLƏRİNDƏ
BAŞ VERƏN DƏYİŞİKLİKLƏR****R.İ.İbrahimov**

Azərbaycan Tibb Universitetinin Elmi Tədqiqat Mərkəzi, Bakı, Azərbaycan

Məqalədə eksperimental aterosklerozlu heyvanlarda içməli su vasitəsilə müxtəlif ağır metallarla xronik zəhərlənmənin oksidləşdirici stress proseslərinə təsirini öyrənmək məqsədilə aparılmış tədqiqat işi haqqında məlumat verilməlidir.

Eksperimentlər qeyri-xətli 110 ağ erkək siçovullar üzərində V seriyada aparılmışdır: I qrup – sağlam heyvanlar; II qrupda – eksperimental aterosklerozlu heyvanlar; ateroskleroz modelləşdirmədən sonra III qrupda – kadmium sulfatla, IV qrupda – nikel nitratla və V qrupda – kobalt nitratla xronik zəhərlənməmə modeli yaradılmışdır. Ateroskleroz modeli, aterosklerozun inkişafının multifaktorial nəzəriyyəsinə əsaslanaraq, İ.V.Savitsky və baş. görə yaradılmışdır. Aterosklerozun modelləşdirilməsindən sonra siçovullar 60 gün ərzində içməli su vasitəsilə ağır metallara xronik zəhərlənmə aparılırdı. Toksikant kimi kadmium-sulfat (1 mq/kq), nikel-nitrat (2 mq/kq) və kobalt-nitrat (2 mq/kq) istifadə edilmişdir. Oksidləşdirici stress prosesləri malondialdehid (MDA), dien konjuqatları (DK) və katalaza (KA) səviyyəsi ilə izlənilmişdir.

Tədqiqat göstərmişdir ki, eksperimental aterosklerozlu siçovulların içməli su vasitəsilə müxtəlif ağır metallarla xronik intoksikasiyası zamanı antioksidant sistemin aktivliyinin azalması fonunda oksidləşdirici stress prosesləri sürətlənir. Bu, qan serumunda KA aktivliyinin azalması ilə paralel MDA və DK səviyyəsinin artması ilə təzahür edir. Dəyişikliklərin şiddəti zəhərlənmə dövrü ilə düz-mütənasib olur və maksimum dəyişikliklər zəhərlənmənin başlanmasından sonrakı 60 günün tamamında müşahidə edilir. Patoloji dəyişikliklər kadmium sulfatla xronik zəhərlənmə zamanı ən yüksək, kobalt-nitratla zəhərlənmə heyvanlarda isə aşağı səviyyədə olmuşdur; nikel-nitratın zəhərləyici təsiri orta səviyyədə olmuşdur. Əldə edilən məlumatlar ağır metallarla xronik zəhərlənməsinin kompleks detoksikasion müalicəsində antioksidantlardan istifadə edilməsinə ehtiyac olduğunu göstərir.

Açar sözlər: ateroskleroz, oksidləşdirici stress, ağır metallar

Ключевые слова: атеросклероз, оксидативный стресс, тяжелые металлы

Key words: atherosclerosis, oxidative stress, heavy metals

**ИЗМЕНЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ РАЗЛИЧНЫМИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА ФОНЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА****Р.И.Ибрагимов**

Отдел фармакологии и токсикологии Центра научных исследований
Азербайджанского медицинского университета, Баку, Азербайджан

В статье представлены результаты исследования, проведенного с целью изучения влияния хронического воздействия различных тяжелых металлов через питьевую воду на процессы оксидативного стресса при экспериментальном атеросклерозе.

Эксперименты выполнены на 110 белых нелинейных крысах-самцах, разделенных на 5 групп: I группа – здоровые животные (10 крыс); II группа – животные с моделированным атеросклерозом (10 крыс); III группа – животные которым после моделирования была проведена затравка сульфатом кадмия (30 крыс), в IV – нитратом никеля (30 крыс) и в V – нитратом кобальта (30 крыс). Модель атеросклероза создавалась по И.В.Савицкому с соавт., основанной на мультифакториальной теории развития атеросклероза. После моделирования атеросклероза крысы подвергались хроническому воздействию тяжелых металлов через питьевую воду в течении 60 дней. В качестве токсикантов использованы сульфат кадмия (1 мг/кг), нитрат никеля (2 мг/кг) и нитрат кобальта (2 мг/кг).

Процессы оксидативного стресса прослеживали по уровню малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК) и каталазы (КА).

Исследование показало, что при хронической интоксикации крыс с экспериментальным атеросклерозом различными тяжелыми металлами через питьевую воду происходит прогрессирующее усиление процессов окислительного стресса на фоне снижения активности антиоксидантной системы. Об этом свидетельствовало нарастание уровня МДА, ДК с параллельным снижением активности КА в сыворотке крови. Выраженность изменений имела прямопропорциональную зависимость со сроком затравки: максимальные изменения отмечались к концу 60 суток от начала затравки. Патологические изменения были наиболее высокими при хроническом отравлении сульфатом кадмия и на низком уровне у животных при отравлении нитратом кобальта; токсическое действие нитрата никеля было умеренным. Полученные данные свидетельствуют о необходимости использования антиоксидантов в комплексном детоксикационном лечении хронического отравления тяжелым металлом.

Высокие концентрации тяжёлых металлов, обусловленные техногенными процессами, в результате биоаккумуляции в настоящее время обнаружены во всех природных средах: атмосфере, воде, почве, растениях и представляет серьезную проблему для живых существ [1]. Считается что основным источником воздействия тяжелых металлов на человека является загрязненная питьевая вода. Тяжелые металлы мигрируя в системе «вода – почва – растения – животное – человек» проникая в человеческий организм, включаются в биохимический цикл и покидают его крайне медленно, вызывая при этом заболевания различных систем организма [2,3]. Согласно литературным данным общий механизм токсичности тяжелых металлов заключается в выработке активных форм кислорода и окислительном разрушении биологических макромолекул, ведущих к развитию различных патологий [4,5,6].

В тоже время в научной литературе появились данные показывающие, что тяжелые металлы являются важным и недооценённым фактором риска, имеющим отношение к развитию атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний [7]. Однако данных о влиянии тяжелых металлов на процессы оксидативного стресса при атеросклерозе выявить не удалось.

Исходя из вышеизложенного целью настоящего исследования являлось выяснение влияния хронического воздействия различных тяжелых металлов (кадмия, никеля и кобальта) через питьевую воду на процессы окислительного стресса у крыс с экспериментальным атеросклерозом.

Материал и методы исследований. Эксперименты выполнены на 110 белых беспородных крысах-самцах, весом 200 - 250 грамм. При проведении исследований следовали «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (Страсбург, 1986) [8]. Крысы в период исследований находились в естественном световом режиме, получали стандартный пищевой рацион и имели свободный доступ к воде и пище.

Исследования проведены на 110 белых нелинейных крысах-самцах, разделенных на 5 групп: I группа – здоровые интактные животные (10 крыс); II группа – животные с моделированным атеросклерозом (10 крыс); животные с моделированным атеросклерозом которым проводилась затравка сульфатом кадмия составили III группу (30 крыс), нитратом никеля – IV группу (30 крыс) и нитратом кобальта – V группу (30 крыс).

Модель атеросклероза создавалась по И.В.Савицкому с соавт. (2016) [9], которая основана на мультифакториальной теории развития атеросклероза. Животные получали антитиреоидный препарат мерказолил в дозе 25 мг/кг, иммуносупрессивный препарат метилпреднизолон в дозе 0,17 мг/кг и 15% водный раствор этилового спирта в свободном доступе вместо воды на фоне атерогенной диеты в течение 2 недель.

После моделирования атеросклероза крысы подвергались хроническому воздействию солей тяжелых металлов через питьевую воду в течение 60 дней. В качестве токсикантов использованы сульфат кадмия (1мг/кг), нитрат никеля (2 мг/кг) и нитрат кобальта (2 мг/кг). Маточный раствор солей тяжелых металлов рассчитывался по уравнению $A=(X*B)*C$: X-коэффициент=6,77, В – средний вес крыс, С – среднесуточное потребление воды животными.

Процессы оксидативного стресса прослеживали по уровню малонового диальдегида (МДА)

по методу В.П.Гаврилова (1987) [10], диеновых конъюгатов (ДК) по Placer L в модификации В.П.Гаврилова (1983) [11] и каталазы (КА) по методу М.А.Королюка (1988) [12]. Изменения показателей контролировали до и после моделирования атеросклероза и соответственно через 15, 30 и 60 дней после затравки на фоне экспериментального атеросклероза.

Для математической обработки полученных данных использовали программу IBM SPSS Statistics. Сравнение средних значений в подгруппах осуществляли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Критический уровень значимости считался при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты исследования показателей окислительного стресса после затравки различными тяжелыми металлами в условиях экспериментального атеросклероза представлены в таблице 1. Как видно из таблицы, после моделирования атеросклероза отмечалось нарастание уровня МДА в среднем на 18% ($p = 0,05$) и ДК на 21% ($p = 0,05$). Параллельно регистрировали снижение уровня КА на 12% ($p = 0,05$) по сравнению с данными интактных животных. Последующая затравка крыс тяжелыми металлами на фоне атеросклеротических изменений значительно усугубляла нарушения в процессах оксидативного стресса, имевших место после моделирования атеросклероза. Так после затравки сульфатом кадмия отмечалось возрастание уровня МДА на 44% ($p = 0,05$) через 15 суток, на 67% ($p = 0,001$) - спустя 30 дней и на 75 % ($p = 0,001$) к концу 60-х суток затравки. Содержание ДК также нарастало на 15 сутки в среднем на 31% ($p = 0,05$), а через 30 и 60 дней после начала затравки соответственно на 40% ($p = 0,001$) и 48% ($p = 0,001$). Параллельно регистрировалось снижение активности КА: на 23% ($p = 0,05$) на 15-е сутки затравки, на 29% ($p = 0,001$) на 30-е и на 44% ($p = 0,001$) - к концу второго месяца затравки.

Как видно из таблицы, после затравки нитратом никеля на фоне экспериментального атеросклероза также отмечались значительное нарастание изменений показателей окислительного стресса. Так через 15 суток затравки никелем уровень МДА увеличивался в среднем на 35% ($p = 0,001$) по сравнению с данными интактных животных, а к концу 30 и 60 суток затравки

на фоне модели атеросклероза наблюдалась превышение уже на 60% ($p = 0,001$) и 70% ($p = 0,001$). Уровень ДК также достоверно нарастал с увеличением срока интоксикации нитратом никеля и был больше чем у интактных животных соответственно на 24% ($p = 0,05$) спустя 15 суток, 34% ($p = 0,001$) – через 30 суток и 40% ($p = 0,001$) – к концу 60 суток. Активность КА в сыворотке крови в изученные сроки после начала затравки по сравнению с исходным уровнем снижалась в среднем на 19% ($p = 0,05$) на 15-е сутки после затравки и 24% ($p = 0,001$) и 30% ($p = 0,001$) на 30 и 60 сутки исследования.

Результаты изучения процессов оксидативного стресса после затравки нитратом кобальта на фоне экспериментального атеросклероза также представлены в таблице. Как видно из нее уровень МДА через 15 и 30 дней после затравки нитратом кобальта был больше, чем у интактных животных в среднем на 35% ($p = 0,001$) на 54% ($p = 0,001$) соответственно. К концу 60-х суток затравки содержание МДА нарастало еще больше и в указанный срок превышало данные интактных животных уже в среднем на 64% ($p = 0,001$). Содержание ДК возрастало в среднем на 20% ($p = 0,05$) и на 29% ($p = 0,001$) соответственно спустя 15 и 30 дней от начала затравки по сравнению с данными интактных животных, а через 60 суток после затравки было больше, чем у интактных животных в среднем на 35% ($p = 0,001$). Параллельно по мере прогрессирования патологического процесса также наблюдалось уменьшение активности КА: на 15-е, 30-е и 60-е сутки затравки отмечалось снижение в среднем на 16% ($p = 0,05$), 21% ($p = 0,001$), 27% ($p = 0,001$) соответственно по сравнению с данными интактных животных.

Таким образом, на основании проведенных исследований по оценке состояния оксидантной и антиоксидантной систем выявлено, что при хронической интоксикации крыс-самцов с экспериментальным атеросклерозом солями различных тяжелых металлов (кадмий, никель и кобальт) через питьевую воду происходит прогрессирующее усиление процессов оксидативного стресса на фоне снижения активности

Таблица. Биохимические показатели оксидативного стресса в сыворотке крови крыс после заправки различными тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза

Показатели	До моделир-я атеросклероза(n=10)	После моделир-я атеросклероза(n=10)	Сроки исследования после заправки		
			15 дней(n=10)	30 дней(n=10)	60 дней(n=10)
КА Д М И Й С У Л Ь Ф А Т					
МДА мкмол/л	3,01 ± 0,43	3,54 ± 0,53*	4,32 ± 0,45*	5,01 ± 0,44*	5,25 ± 0,51*
ДК D 232/мл	0,59 ± 0,08	0,73 ± 0,08*	0,78 ± 0,08*	0,84 ± 0,06*	0,89± 0,05*
КА Мкт/л	12,8 ± 1,39	11,2 ± 1,42*	9,8 ± 1,03*	9,1 ± 1,1*	8,4 ± 0,84*
НИ К Е Л Ь Н И Т Р А Т					
МДА мкмол/л	3,01± 0,43	3,54 ± 0,53*	4,05 ± 0,46*	4,8 ± 0,22*	5,12 ± 0,4*
ДК D232/мл	0,59 ± 0,08	0,73 ± 0,08*	0,74 ± 0,06*	0,8 ± 0,04*	0,84 ± 0,05*
КА Мкт/л	12,8 ± 1,39	11,2 ± 1,42*	10,3 ± 1,16 *	9,7 ± 1,16*	8,9 ± 0,74*
КО Б А Л Ь Т Н И Т Р А Т					
МДА мкмол/л	3,01 ± 0,43	3,54 ± 0,54*	4,05 ± 0,45*	4,62 ± 0,19*	4,92 ± 0,42 *
ДК D232/мл	0,59 ± 0,09	0,73 ± 0,08*	0,72 ± 0,04*	0,77 ± 0,04*	0,81 ± 0,03 *
КА Мкт/л	12,8 ± 1,39	11,2 ± 1,42*	10,8 ± 1,03*	10,1 ± 1,2 **	9,3 ± 0,82*

Примечание: * - достоверность при сравнении с данными интактных животных.

антиоксидантной системы. Об этом свидетельствовало нарастание уровня МДА, ДК с параллельным снижением активности КА в сыворотке крови. Выраженность изменений имела временной характер, то есть наблюдалась прямопропорциональная зависимость между нарастанием степени выраженности изменений с увеличением сроков затравки солями тяжелых металлов. Максимальные изменения показателей оксидативного стресса отмечались к концу 60 суток от начала затравки. По степени выраженности изменений наиболее выра-

женные изменения отмечались после затравки кадмием, далее никелем и кобальтом. Результаты исследований также показывают, что несмотря на то, что кобальт является одним из необходимых микроэлементов для человека, его длительное избыточное поступление также провоцирует проокислительные процессы. Кроме того, полученные данные диктуют необходимость использования антиоксидантов в комплексной детоксикационной терапии хронических отравлений солями тяжелых металлов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hajime Koyama, Teru Kamogashira, Tatsuya Yamasoba. Heavy Metal Exposure: Molecular Pathways, Clinical Implications, and Protective Strategies //Antioxidants (Basel), 2024;13(1):76. doi: 10.3390/antiox13010076
2. Varsha Gupta, Dinesh Kumar, Anamika Dwivedi et al. Heavy metal contamination in river water, sediment, groundwater and human blood, from Kanpur, Uttar Pradesh, India // Environ. Geochem. Health, 2023;45(5):1807-1818. doi: 10.1007/s10653-022-01290-0
3. Kanwal Rehman, Fiza Fatima, Iqra Waheed, Muhammad Sajid Hamid Akash Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences //J. Cell Biochem., 2018;119(1):157-184. doi: 10.1002/jcb.26234.
4. Zhushan Fu, Shuhua Xi. The effects of heavy metals on human metabolism //Toxicol. Mech. Methods, 2020;30(3):167-176. doi: 10.1080/15376516.2019.1701594
5. Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease //Toxicology, 2011;10;283(2-3):65-87.
6. Brittany Killian, Tzu-Hsuen Yuan, Cheng-Hsien Tsai et al. Emission-related Heavy Metal Associated with Oxidative Stress in Children: Effect of Antioxidant Intake //Int. J. Environ. Res. Public. Health, 2020;17(11):3920. doi: 10.3390/ijerph17113920
7. Fagerberg B., Barregard L., Sallsten G. et al. Cadmium exposure and atherosclerotic carotid plaques—results from the Malmo diet and Cancer study //Environ. Res. 2015; 136: 67–74.
8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 18.III.1986.
9. Савицкий И. В., Слюсарь А. А., Мясковская И. В. Мультифакторное моделирование атеросклероза на крысах //Журнал образования, здоровья и спорта,2016; 6 (3): 233-240. [Savitskiy I. V., Slyusar A. A., Myastkovskaya I. V. Multifaktornoye modelirovaniye ateroskleroza na kryсах // Zhurnal obrazovaniya, zdorov'ya i sporta, 2016; 6 (3): 233-240.]
10. Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Мажуль Л. М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой //Вопросы медицинской химии, 33(1), 118-122. [Gavrilov V. B., Gavrilova A. R., Mazhul L. M. Analiz metodov opredeleniya produktov perekisnogo okisleniya lipidov v syvorotke krovi po testu s tiobarbiturovoy kislotoi // Voprosy meditsinskoy khimii, 33(1), 118-122.]
11. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови //Лаб. дело.,1983. № 3. С. 33–35. [Gavrilov V. B., Mishkorudnaya M. I. Spektrofotometricheskoye opredeleniye soderzhaniya gidroperekisey lipidov v plazme krovi // Lab. delo, 1983. № 3. S. 33–35.]
12. Королюк М.А., Иванова Л.Н., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы //Лаб. дело,1988, 1, с.16-19. [Korolyuk M. A., Ivanova L. N., Mayorova I. G., Tokarev V. E. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy // Lab. delo, 1988, 1, s.16-19.]

CHANGES IN OXIDATIVE STRESS PROCESSES DURING CHRONIC INTOXICATION BY VARIOUS HEAVY METALS ON THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS

R.I.Ibragimov

Scientific Research Center of Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

In the article present the results of a study conducted to study the effect of chronic exposure to various heavy metals through drinking water on the process of oxidative stress in experimental atherosclerosis.

The experiments were performed on 110 white non-linear male rats, divided into 5 groups: Group I – healthy animals (10 rats); Group II - animals with modeling atherosclerosis (10 rats); Group III - animals that, after modeling, were exposure to cadmium sulfate (30 rats), in IV - to nickel nitrate (30 rats) and in V - to cobalt nitrate (30 rats).

Experiments were performed on white outbred male rats, in V series: Group I – healthy animals (control); Group II - animals with experimental atherosclerosis; after modeling in group III - chronic exposure with cadmium sulfate, in group IV - with nickel nitrate and in group V - with cobalt nitrate on the background of experimental atherosclerosis. The model of atherosclerosis was created according to I.V. Savitsky et al., based on the multifactorial theory of the development of atherosclerosis. After modeling atherosclerosis, rats were exposed to chronic heavy metals through drinking water for 60 days. Cadmium sulfate (1 mg/kg), nickel nitrate (2 mg/kg) and cobalt nitrate (2 mg/kg) were used as toxicants. The processes of oxidative stress were monitored by the level of malondialdehyde (MDA), diene conjugates (DC) and catalase (CA).

The study showed that during chronic intoxication of rats with experimental atherosclerosis with various heavy metals through drinking water, there is a progressive increase in oxidative stress processes against the background of a decrease in the activity of the antioxidant system. This was evidenced by an increase in the level of MDA and DC with a parallel decrease in CA activity in the blood serum. The severity of the changes was directly proportional to the period of exposure: maximum changes were observed at the end of 60 days from the start of exposure. Pathological changes were highest in chronic poisoning with cadmium sulfate and at low levels in animals with cobalt nitrate poisoning; the toxic effect of nickel nitrate was moderate. The obtained data indicate the need to use antioxidants in complex detoxification treatment of chronic heavy metal poisoning.

Автор для переписки:

Ибрагимов Рашад Ибрагим оглы, Центр Научных Исследований Азербайджанского Медицинского Университета, Баку, Азербайджан

E-mail: iri-71@mail.ru