

Ю. К. Василенко, Н. Ш. Кайшева

К МЕХАНИЗМУ ДЕТОКСИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КИСЛЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ПРИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Известна эффективность пектинов в профилактике профессиональных интоксикаций тяжелыми металлами [1].

В настоящей работе исследовалось влияние пектина свекловичного и ламинарида из морской капусты на содержание свинца (Pb) в биологических субстратах и параметры биологического окисления в условиях свинцовой интоксикации у крыс.

Экспериментальная химическая часть

Свекловичный пектин и ламинарид получены известными способами [2, 3]. Полученный пектин характеризуется следующим содержанием функциональных групп (масс. %): свободные карбоксильные группы 13,59; метилированные карбоксильные группы 17,76;

степень этерификации карбоксильных групп 40,42; ацетилированные гидроксильные группы 12,59. Ламинарид представляет собою суммарный полисахаридно-аминокислотный препарат, содержащий (масс. %): альгиновую кислоту 28,54; другие полисахариды 18,50; аминокислоты 5,60; а также микро- и макроэлементы 31,45. Сорбционная способность (мг Pb²⁺/г) пектина составляет 1525, ламинарида 2313.

Экспериментальная биологическая часть

Опыты проводили на белых крысах обоего пола массой 170 – 200 г. Количественное содержание свинца (Pb) в тканях определяли методом заместительного комплексонометрического титрования после минерализации биосубстратов в присутствии смеси азотной и

Таблица 1

Влияние пектина и ламинарида на содержание свинца в биологических субстратах крыс с нормальным содержанием свинца в организме

Биоматериал	Интактные животные	Содержание свинца у животных, получавших:					
		полифепан		пектин		ламинарид	
		4 недели	8 недель	4 недели	8 недель	4 недели	8 недель
Бедренная кость	4,42 ± 0,31	4,22 ± 0,22 <i>P</i> ₁ > 0,05	4,05 ± 0,18 <i>P</i> ₁ > 0,05	2,77 ± 0,30 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ < 0,01	0,80 ± 0,20 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	2,43 ± 0,30 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	0,62 ± 0,21 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001
Эпифиз	4,49 ± 0,35	4,25 ± 0,30 <i>P</i> ₁ > 0,05	4,17 ± 0,27 <i>P</i> ₁ > 0,05	2,95 ± 0,21 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ < 0,01	0,92 ± 0,20 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	2,78 ± 0,40 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ < 0,01	0,74 ± 0,30 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001
Грудина	2,80 ± 0,22	2,71 ± 0,15 <i>P</i> ₁ > 0,05	2,63 ± 0,21 <i>P</i> ₁ > 0,05	2,41 ± 0,16 <i>P</i> ₁ > 0,05 <i>P</i> ₂ > 0,05	0,99 ± 0,30 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,01	0,29 ± 0,20 <i>P</i> ₁ > 0,05 <i>P</i> ₂ > 0,05	0,68 ± 0,15 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001
Бедренная мышца	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01 <i>P</i> ₁ > 0,05	0,08 ± 0,01 <i>P</i> ₁ > 0,05	0,06 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,02 <i>P</i> ₂ > 0,05	0,04 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ < 0,02	0,05 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ < 0,02	0,02 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,01
Печень	0	0,02 ± 0,005 <i>P</i> ₁ < 0,01	0,12 ± 0,02 <i>P</i> ₁ < 0,001	0,10 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	0,57 ± 0,08 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	0,95 ± 0,20 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	1,88 ± 0,40 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,01
Почка	0	0,03 ± 0,003 <i>P</i> ₁ < 0,02	0,05 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,001	0,08 ± 0,02 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ < 0,05	0,22 ± 0,04 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,01	0,10 ± 0,03 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ > 0,05	0,31 ± 0,06 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,01
Кровь	0,03 ± 0,01	0,09 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,01	0,17 ± 0,03 <i>P</i> ₁ < 0,01	0,26 ± 0,04 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,01	1,43 ± 0,21 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	0,29 ± 0,40 <i>P</i> ₁ < 0,05 <i>P</i> ₂ > 0,05	1,67 ± 0,35 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,01
Моча	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01 <i>P</i> ₁ > 0,05	0,08 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,02	0,15 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	0,54 ± 0,14 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ < 0,01	0,17 ± 0,05 <i>P</i> ₁ < 0,05 <i>P</i> ₂ < 0,05	0,78 ± 0,14 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001
Кожа с шерстью	0,044 ± 0,01	0,06 ± 0,01 <i>P</i> ₁ > 0,05	0,06 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,01	0,09 ± 0,01 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,05	0,22 ± 0,02 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001	0,13 ± 0,02 <i>P</i> ₁ < 0,01 <i>P</i> ₂ < 0,02	0,55 ± 0,10 <i>P</i> ₁ < 0,001 <i>P</i> ₂ < 0,001

Примечания: *P*₁ — вероятность различий по отношению к интактным животным; *P*₂ — по отношению к животным, получавшим полифепан; интактная и опытные группы содержали по 10 животных

серной кислот и растворения зола в растворах ацетата аммония [4, 5]. Животным с нормальным содержанием свинца в организме пектин, ламинарид или препарат сравнения полифепан вводили в дозе 500 мг/кг ежедневно перорально в течение 4 – 8 недель. В качестве контроля служила группа интактных животных. В опытах со свинцовой интоксикацией животным ежедневно перорально вводили сначала раствор ацетата свинца (II) в дозе 45 мг/кг в течение одной недели, а затем исследуемые препараты в дозе 100 мг/кг или 1 мл изотонического раствора натрия хлорида (контроль) в течение 4 – 8 недель.

В качестве показателей процессов, связанных с биологическим окислением, определяли окислительное фосфорилирование и содержание АТФ в печени [6, 7], активность монооксигеназ эндоплазматической сети клеток печени [7], концентрацию гемоглобина крови [8], уровень SH-групп в сыворотке крови и содержание глутатиона [9], скорость пероксидного окисления липидов (образования малонового диальдегида) в мембранах эритроцитов [7], спонтанный гемолиз эритроцитов по Ягеру [7], активность каталазы крови

[9]. Результаты опытов обрабатывали методом вариационной статистики [10].

Результаты и их обсуждение

Из приведенных в табл. 1 и 2 данных видно, что длительное применение полисахаридов (особенно ламинарида) способствует выведению из костной ткани не только поступившего, но и естественно содержащегося в организме свинца с одновременным увеличением его содержания в печени, почках, коже с шерстью, крови и моче. Полифепан уступает в эффективности как пектину, так и ламинариду.

Введение полисахаридов вызывает не только перераспределение свинца в организме крыс, но и активизирует процессы биологического окисления при свинцовой интоксикации (табл. 3). Так, под влиянием пектина и ламинарида окислительное фосфорилирование в печени увеличивается (в 4 и 6 раз соответственно), что приводит к росту содержания АТФ (в 5 и 7 раз по сравнению с контрольными животными). Одновременно наблюдается повышение относительной активности монооксигеназ печени.

Таблица 2
Влияние пектина и ламинарида на содержание свинца (%) в биологических субстратах крыс при свинцовой интоксикации

Биоматериал	Интактные животные	Содержание свинца (в %) у животных, получавших свинца ацетат (1 неделя) и:					
		0,9 % раствор NaCl (контроль)		пектин		ламинарид	
		4 недели	8 недель	4 недели	8 недель	4 недели	8 недель
Бедренная кость	4,83 ± 0,45	7,05 ± 0,65 $P_1 < 0,02$	6,84 ± 0,53 $P_1 < 0,02$	3,58 ± 0,25 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	1,57 ± 0,14 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	3,33 ± 0,31 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	1,25 ± 0,10 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Эпифиз	4,95 ± 0,44	7,49 ± 0,62 $P_1 < 0,01$	6,97 ± 0,64 $P_1 < 0,05$	3,83 ± 0,24 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	1,64 ± 0,18 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	3,55 ± 0,30 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	1,37 ± 0,15 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Грудина	2,88 ± 0,25	6,84 ± 0,61 $P_1 < 0,001$	6,33 ± 0,55 $P_1 < 0,001$	3,68 ± 0,25 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	1,43 ± 0,16 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	3,47 ± 0,08 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	1,24 ± 0,10 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Бедренная мышца	0,11 ± 0,01	0,15 ± 0,01 $P_1 < 0,02$	0,14 ± 0,008 $P_1 < 0,05$	0,08 ± 0,005 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	0,07 ± 0,002 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$	0,07 ± 0,001 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$	0,04 ± 0,001 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Печень	0,03 ± 0,002	0,07 ± 0,005 $P_1 < 0,001$	0,15 ± 0,01 $P_1 < 0,001$	0,17 ± 0,01 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,69 ± 0,05 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	1,01 ± 0,09 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	2,13 ± 0,17 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Почка	0	0,03 ± 0,001 $P_1 < 0,001$	0,05 ± 0,002 $P_1 < 0,001$	0,15 ± 0,01 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,48 ± 0,04 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,25 ± 0,02 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,56 ± 0,05 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Кровь	0,05 ± 0,003	0,12 ± 0,01 $P_1 < 0,001$	0,21 ± 0,02 $P_1 < 0,001$	0,41 ± 0,04 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	1,65 ± 0,15 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,44 ± 0,03 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	1,88 ± 0,15 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Моча	0,04 ± 0,001	0,06 ± 0,004 $P_1 < 0,001$	0,09 ± 0,006 $P_1 < 0,001$	0,17 ± 0,01 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,56 ± 0,05 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,19 ± 0,02 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,81 ± 0,08 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Кожа с шерстью	0,05 ± 0,005	0,09 ± 0,008 $P_1 < 0,01$	0,12 ± 0,01 $P_1 < 0,001$	0,13 ± 0,01 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,02$	0,27 ± 0,02 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,18 ± 0,02 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,01$	0,62 ± 0,05 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$

Примечание: P_1 — вероятность различий по отношению к интактным животным, P_2 — по отношению к контролю; интактная и опытные группы содержали по 10 животных

Таблица 3
Влияние полисахаридов на показатели биологического окисления у крыс при свинцовой интоксикации

Группа животных (n = 10)	Окислительное фосфорилирование в печени (убыль Ф _H , мкмоль)	Содержание АТФ в печени (Ф _H , мкмоль/г)	Относительная активность монооксигеназ печени (%)
Получавшие свинца ацетат	0,318 ± 0,03 P ₁ < 0,001	0,297 ± 0,03 P ₁ < 0,001	5,0 ± 0,4 P ₁ < 0,001
Получавшие свинца ацетат и 0,9 % раствор NaCl (контроль)	0,355 ± 0,04 P ₁ < 0,001 P ₂ > 0,05	0,322 ± 0,03 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	6,6 ± 0,4 P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,02
Получавшие свинца ацетат и пектин	1,264 ± 0,11 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001	1,496 ± 0,08 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001	10,0 ± 0,4 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001
Получавшие свинца ацетат и ламинарид	1,891 ± 0,19 P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ < 0,02	2,083 ± 0,09 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ < 0,001	12,4 ± 0,9 P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ < 0,05

Примечание: здесь и в табл. 4, 5: P₁ — вероятность различий по отношению к интактным животным, P₂ — по отношению к животным, получавшим свинец, P₃ — по отношению к контролю, P₄ — по отношению к животным, получавшим пектин

Известно [11], что ионы свинца(II) связываются с сульфгидрильными, фосфатными, карбоксильными группами биомолекул, что приводит к снижению активности SH-содержащих ферментов и концентрации восстановленного глутатиона.

Опыты показали, что введение пектина и ламинарида в условиях свинцовой интоксикации восстанавливает уровень глутатиона и сульфгидрильных групп в крови (табл. 4), блокирует образование малонового диальдегида в мембранах эритроцитов, повышает ак-

Таблица 4
Влияние полисахаридов на содержание глутатиона и сульфгидрильных групп в крови крыс при свинцовой интоксикации

Группа животных (n = 10)	Общее содержание SH-групп (мг % цистеина)	Содержание		
		остаточных SH-групп (мг % цистеина)	общего глутатиона (мг %)	восстановленного глутатиона (мг %)
Интактные	35,41 ± 2,2	24,04 ± 1,6	36,35 ± 1,8	20,48 ± 1,2
Получавшие свинец	16,13 ± 1,1 P ₁ < 0,001	4,59 ± 0,3 P ₁ < 0,001	58,45 ± 3,9 P ₁ < 0,001	3,11 ± 0,3 P ₁ < 0,001
Получавшие свинец и 0,9 % раствор NaCl (контроль)	22,15 ± 1,8 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,02	8,32 ± 0,7 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	57,32 ± 3,0 P ₁ < 0,001 P ₂ > 0,05	3,58 ± 0,4 P ₁ < 0,001 P ₂ > 0,05
Получавшие свинец и пектин	29,65 ± 1,3 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,01	15,68 ± 1,2 P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001	42,58 ± 2,1 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,01	23,98 ± 1,0 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001
Получавшие свинец и ламинарид	39,26 ± 2,8 P ₁ > 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ < 0,02	21,81 ± 1,6 P ₁ > 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ < 0,02	44,61 ± 2,3 P ₁ < 0,02 P ₂ < 0,02 P ₃ < 0,01 P ₄ > 0,05	23,83 ± 0,9 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ > 0,05

тивность каталазы крови и устойчивость эритроцитов к гемолизу (табл.5). Эти изменения свидетельствуют о способности кислых полисахаридов замедлять реакции свободнорадикального окисления. Наряду с этим полисахариды оказывают антигипоксический эффект, о чем свидетельствовало повышение содержания гемоглобина крови (на 50,5 %, P < 0,001 при введении пектина и на 17,7 %, P < 0,05 — ламинарида), а также увеличение продолжительности жизни белых мышей с острой гемической гипоксией, вызванной нитритом натрия [12].

Таблица 5
Влияние полисахаридов на активность каталазы крови, скорость образования малонового диальдегида в мембранах эритроцитов и их спонтанный гемолиз у крыс при свинцовой интоксикации

Группа животных (n = 10)	Скорость образования малонового альдегида, (нмоль/ч)		Спонтанный гемолиз по Ягеру (%)	Активность каталазы (· 10 ⁹)
	в присутствии прооксиданта	в отсутствие прооксиданта		
Интактные	57,7 ± 1,4	51,4 ± 2,5	9,8 ± 1,1	7,42 ± 0,57
Получавшие свинец	74,9 ± 4,5 P ₁ < 0,01	68,8 ± 3,1 P ₁ < 0,01	44,0 ± 4,2 P ₁ < 0,001	0,38 ± 0,02 P ₁ < 0,001
Получавшие свинец и 0,9 % раствор NaCl (контроль)	70,0 ± 3,1 P ₁ < 0,01 P ₂ > 0,05	67,3 ± 3,0 P ₁ < 0,01 P ₂ > 0,05	27,0 ± 2,6 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01	—
Получавшие свинец и пектин	17,5 ± 1,1 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001	15,9 ± 2,3 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001	13,5 ± 1,2 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001	3,50 ± 0,2 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001
Получавшие свинец и ламинарид	38,2 ± 2,9 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ < 0,001	34,4 ± 2,9 P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ < 0,001	12,8 ± 0,7 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,001 P ₄ > 0,05	2,74 ± 0,24 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001 P ₄ < 0,05

Таким образом, можно полагать, что кислые полисахариды, связывая ионы свинца и вытесняя их из комплексов с функциональными группами важных биомолекул, могут оказать нормализующее влияние на многие процессы жизнедеятельности организма при свинцовой интоксикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. З. Ж. Ашубаева, А. М. Молдошев, А. Д. Джумалиев и др., *Применение пектинов в медицине*, Фрунзе (1990), сс. 7 – 21.
2. Патент России 2132696 (1999); *РЖ Химия*, 230218П (1999).
3. М. В. Мокроуз, Г. В. Оболенцева, И. Ф. Макаревич и др., *Тез. докл. III Всесоюз. съезда фармацевтов*, Тимпул, Кишинев (1980), сс. 209 – 210.
4. О. Г. Архипова, М. М. Шацкая, Л. С. Семенова и др., *Методы исследований в профессиональной патологии*, Медицина, Москва (1988), сс. 163 – 166.
5. Г. Шварценбах, Г. Флашка, *Комплексометрическое титрование*, Химия, Москва (1970), сс. 297 – 298.
6. Л. И. Пустовалова, *Практикум по биохимии*, Химия, Ростов-на-Дону (1999), сс. 237 – 239.
7. Е. А. Строев, В. Г. Макарова, *Практикум по биологической химии*, Химия, Москва (1986), сс. 105 – 109, 196 – 199.
8. В. С. Камышников, О. А. Волотовская, А. Б. Ходюкова и др., *Методы клинических лабораторных исследований*, Медицина, Минск (2001), сс. 349 – 350, 357 – 358.
9. Н. Н. Пушкина, *Биохимические методы исследования*, Медицина, Москва (1963), сс. 41 – 46.
10. И. А. Ойвин, *Патол. физиол. и эксперим. тер.*, **4**(4), 76 – 85 (1960).
11. Ю. А. Ершов, Т. Е. Плетенева, *Механизмы токсического действия неорганических соединений*, Медицина, Москва (1989), сс. 199 – 206.
12. А. А. Бакибаев, В. Д. Филимонов, Л. Г. Тигнибидина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **28**(4), 34 – 36 (1993).

Поступила 31.10.02