

DOI: 10.26693/jmbs02.05.116

УДК 616.71:546.81:577.118:546.56:616-092.9

Білецька Е. М., Калінічева В. В.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА РІВНІВ ОСТЕОАСОЦІЙОВАНОГО МІКРОЕЛЕМЕНТУ МІДІ У КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ ЗА УМОВ ВПЛИВУ СВИНЦЮ В МАКРО- ТА НАНОАКВАХЕЛАТНІЙ ФОРМІ НА ТВАРИН В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ УМОВАХ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія», Дніпро

enbelitska@ukr.net

Зростання захворюваності населення на хвороби кістково-м'язової системи на тлі зниження міцності скелета та при наявності все зростаючого техногенного навантаження на організм людини, ставить необхідність гігієнічного аналізу ролі остеоасоційованих мікроелементів, в т.ч. міді, у розвитку остеопатій у населення промислового міста.

У зв'язку з цим, метою дослідження є вивчення впливу ізольованої дії сполук свинцю в макро- та наноаквахелатній формі на вміст міді у кістковій тканині лабораторних тварин в умовах експерименту.

Ключові слова: свинець, мікроелементи, кісткова тканина.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом НДР «Гігієнічна діагностика формування екологозалежних мікроелементозів у населення промислового регіону та їх профілактика» № держ. реєстрації 0114U005582, шифр ІН.03.15

Вступ. Зростання захворюваності населення на хвороби кістково-м'язової системи на тлі зниження міцності скелета та при наявності все зростаючого техногенного навантаження на організм людини [5, 9], ставить необхідність гігієнічного аналізу ролі остеоасоційованих мікроелементів, в т.ч. міді, у розвитку остеопатій у населення промислового міста.

В організмі людини кісткова тканина має найбільші кумулятивні властивості по відношенню до багатьох ксенобіотиків, зокрема до групи важких

металів, серед яких свинець є лідером за ступенем спорідненості до кісткової тканини [1, 6, 8].

Есенціальні мікроелементи, а в т.ч. мідь, виконують важливу роль в кістковому ремоделюванні [7, 11]. Так, мідь є активатором кісткової мінералізації та бере участь у синтезі органічних речовин для кісткоутворення [3].

У зв'язку з цим, **метою дослідження** є вивчення впливу ізольованої дії сполук свинцю в макро- та наноаквахелатній формі на вміст міді у кістковій тканині лабораторних тварин в умовах експерименту.

Об'єкт і методи дослідження. Для проведення експериментальних досліджень було обрано щурів лінії Wistar. В експерименті використано методичні підходи, що відповідають сучасним міжнародним вимогам щодо проведення токсикологічних експериментів з використанням тварин відповідно до Європейської конвенції [10]. Тварини були розподілені на дві піддослідні та одну контрольну групи у випадковому порядку з формуванням однорідності за середньою масою. Доза ацетату свинцю (макроформа свинцю) близька до $1/30000$ LD₅₀, відповідає 0,05 мг/кг маси тіла, вводили ізольовано (друга дослідна група) та цитрату свинцю (наноаквахелатна форма свинцю) - в дозі 0,05 мг/кг (третя дослідна група). Щурам контрольної групи (перша група) у ці ж строки вводили дистильовану воду. Для максимального наближення експерименту до природних умов обрано пероральний шлях введення згідно з методичними рекомендаціями з вивчення токсичності металів – за допомогою

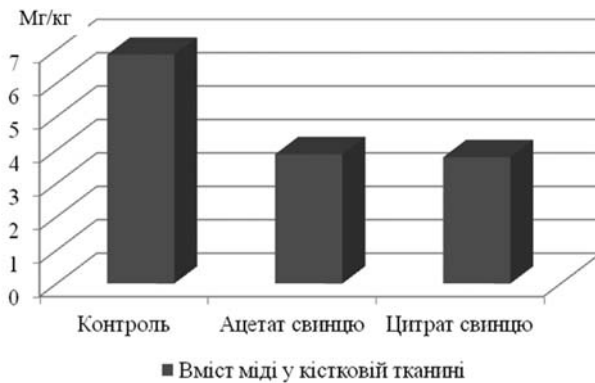


Рис. Вміст міді у кістковій тканині дослідних та контрольної груп тварин

внутрішньошлункового зонду [2]. Стегнову кістку препарували та виділяли за загальноприйнятими методиками [4].

Результати досліджень та їх обговорення.

Виявлено, що вміст міді у кістковій тканині нижчий за аналогічні дані контрольної групи тварин, за умов низькодозового впливу свинцю. Так, концентрація міді зменшилась на 43,5% ($p < 0,001$) та становила $3,87 \pm 0,28$ мг/кг (рис.), порівняно з щурами контрольної групи, аналогічні показники якої відповідають $6,85 \pm 0,7$ мг/кг.

Отриманий ефект сприяє порушенню співвідношення Zn:Cu, за рахунок дефіциту міді, що, в свою чергу, впливає на концентрацію цинку, доведеного біоантагоніста свинцю. Отже, каскад порушень мінерального складу кісток здатний спричинити певні морфологічні зміни та розвиток остеопатій.

Серед тварин третьої групи вміст досліджуваного мікроелементу знизився на 44,8% ($p < 0,001$) та становив $3,78 \pm 0,15$ мг/кг, порівняно з кістковою тканиною щурів контрольної групи.

Порівняльна оцінка двох дослідних груп між собою, свідчить про відсутність достовірної різниці між впливом макро- та наноаквахелатною формою свинцю на вміст міді у кістковій тканині, тобто ацетат свинцю та цитрат свинцю майже в однаковій мірі сприяє зниженню вмісту міді у кістці у середньому на 44,2%.

Множинне порівняння дослідних груп з контрольною за критерієм Даннетта (Dunnett test) свідчить про достовірність різниці вмісту міді у кістковій тканині щурів, які отримували макроформу свинцю ($p < 0,001$) та наноаквахелатну його форму

($p < 0,001$) по відношенню до тварин контрольної групи.

Проведений дисперсійний аналіз ANOVA результатів дослідження вмісту міді у кістковій тканині тварин другої та третьої дослідних груп свідчить про відсутність достовірних відмінностей між показниками концентрації міді у кістці дослідних груп в цілому ($p > 0,05$). Результати аналізу підтверджуються і коефіцієнтом детермінації (R^2), який становить 0,006.

Нами проаналізована однорідність даних вмісту міді у кістковій тканині щурів дослідних та контрольної груп (Homogenous Groups), отримані результати свідчать, що між групами з різних підмножин $p < 0,05$, всередині підмножини $p > 0,05$ (за умов критичного значення для підмножини – $p < 0,05$), тобто друга і третя групи не відрізняються, між собою, але відрізняються від контролю (табл.).

Таблиця – Однорідність дослідних та контрольної груп за вмістом міді у кістковій тканині щурів

Група	Фактори впливу	Вміст міді, мг/кг	1	2
1	контроль	6,85		****
2	ацетату свинцю (макроформа свинцю)	3,87	****	
3	цитрату свинцю (наноаквахелатна форма свинцю)	3,78	****	

Примітка: Критичне значення для підмножини – $p < 0,05$.

Отже, результати проведеного нами аналізу свідчать про біоантагоністичні взаємовідносини між міддю та свинцем у кістковій тканині.

Підсумок. За умов ізольованого низькодозового впливу ацетату свинцю (макроформа свинцю) та цитрату свинцю (наноаквахелатна форма) вміст міді у кістковій тканині знижується на 43,5% ($p < 0,01$) та 44,8% ($p < 0,01$) відповідно порівняно з контролем, без достовірної різниці між собою. Отже, зниження міді, порушуючи співвідношення Zn:Cu, за рахунок значного дефіциту останньої, впливає на концентрацію цинку, який є доведеним біоантагоністом свинцю.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується визначення й інших остеосоціюваних мікро- та мікроелементів у кістковій тканині, за умов впливу свинцю тварин, з подальшим аналізом результатів.

References

1. Biletska EM, Onul NM, Kalinicheva VV. Porivnyalna otsinka bioprotekturnoi diyi tsynku v makro- ta nanoakvaxelatnyy formi na osteotropnist svyntsyyu v eksperymentalnykh umovakh. *Zhurnal «Medychni perspektyvy»*. 2016; 21 (4): 123-9. [Ukrainian].
2. Elizarova ON, Zhidkova LV, Kochetkova TA. *Posobie po toksikologii dlya laborantov*. Moskva: Meditsina, 1974. 168 s. [Russian].

3. Lemesheva SA. *Khimicheskij sostav, svoystva kostnogo apatita i ego analogov: avtoref. dis. ... kand. chem. Nauk. Abstr. PhDr. (Chem.)*. Moskva; 2010. 20 s. [Russian].
4. Antonovich EA, Kagan YuS, Spynu EI. *Metodicheskie ukazaniya po gigienicheskoj otsenke novykh pestitsidov*. Ministerstvo zdravookhraneniya SSSR; VNII gigieny i toksikologii pestitsidov, polimerov i plasticheskikh mass. Kiev, 1988. [Russian].
5. Chen Zh, Salam MT, Karim R, Toledo-Corral CM, Watanabe RM, Xiang AH, Buchanan TA, Habre R, Bastain TM, Lurmann F, Taher M, Wilson JP, Trigo E, Gilliland FD. Living near a Freeway is Associated with Lower Bone Mineral Density among Mexican Americans. *Osteoporos Int*. 2015 Jun; 26 (6): 1713–21. doi: 10.1007/s00198-015-3051-z.
6. Allen LH. *Food Safety: Heavy Metals. Encyclopedia of Human Nutrition*. Third Edition. 2013. p. 331-6.
7. Sierpinska T, Konstantynowicz J, Orywal K, Golebiewska M, Szmitkowski M. Copper deficit as a potential pathogenic factor of reduced bone mineral density and severe tooth wear. *Osteoporosis International*. 2014; 25 (2): 447-54. DOI: 10.1007/s00198-013-2410-x.
8. Lu H, Yuan G, Yin Z, Dai S, Jia R, Xu J, Song X, Li L, Lv C. Effects of subchronic exposure to lead acetate and cadmium chloride on rat's bone: Ca and Pi contents, bone density, and histopathological evaluation. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014; 7: 640-7.
9. Smith JT, Schneider AD, Katchko KM, Yun C, Hsu EL. Environmental Factors Impacting Bone-Relevant Chemokines. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017; 8: 22. doi:10.3389/fendo.2017.00022.
10. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Council of Europe. Strasburg, 1986. 53 p.
11. Chongwatpol P, Rendina-Ruedy E, Stoecker BJ. Implications of compromised zinc status on bone loss associated with chronic inflammation in C57BL/6 mice. *Journal Inflammation Research*. 2015; 8: 117–28. <https://doi.org/10.2147/JIR.S82261>.

УДК 616.71:546.81:577.118:546.56:616-092.9

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЕЙ ОСТЕОАССОЦИИРОВАННОГО
МИКРОЭЛЕМЕНТА МЕДИ В КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СВИНЦА
В МАКРО- И НАНОАКВАХЕЛАТНОЙ ФОРМЕ НА ЖИВОТНЫХ
В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ**

Белецкая Э. Н., Калиничева В. В.

Резюме. Рост заболеваемости населения болезнями костно-мышечной системы на фоне снижения прочности скелета и при наличии возрастающей техногенной нагрузки на организм человека, ставит необходимость гигиенического анализа роли остеоассоциированных микроэлементов, в т.ч. меди, в развитии остеопатий у населения промышленного города.

В связи с этим, целью исследования явилось изучение влияния изолированного действия соединений свинца в макро- и наноаквахелатной форме на содержание меди в ткани лабораторных животных в условиях эксперимента.

Ключевые слова: свинец, микроэлементы, костная ткань.

UDC 616.71:546.81:577.118:546.56:616-092.9

**Comparative Research of Osteoassociated Micronutrient Levels
of Copper in Bone Tissue under the Influence of Lead in Macro
and Nanoquenchehelate Form on Animals in Experimental Conditions**

Biletskaya E., Kalinicheva V.

Abstract. Nowadays population's morbidity connected with bone and muscular system diseases increases rapidly. In addition, there is a tendency of skeleton's strength reducing and technogenic pressure on the human body increasing. All these factors determine the need for hygienic analysis of the osteoassociated trace elements role, including copper, in the development of osteopathy in the industrial city population.

Bone tissue has the highest cumulative properties in the human body, in relation to many xenobiotics, in particular to the group of heavy metals, among which lead is leading in the degree of bone tissue affinity.

Essential micronutrients, including copper, play an important role in bone remodeling. Thus, copper is an activator of bone mineralization and is involved in the synthesis of organic substances for bone formation.

In this regard, *the purpose of the study* is to investigate the effect of the isolated action of lead compounds in the macro- and nanoacquare form on the content of copper in the bone tissue of laboratory animals under experimental conditions.

Materials and methods. Wistar rats were selected for experimental research. The experiment was conducted by means of methodological approaches that meet the current international requirements for toxicological

experiments using animals in accordance with the European Convention. Animals were randomly assigned to two subjects and one control group with homogeneity in average weight. The dose of lead acetate (macrochaperone of lead) is close to 1/30000 LD50, corresponds to 0.05 mg/kg body weight, administered in isolation (the second experimental group) and lead citrate (nanoacqualate form of lead) - at a dose of 0.05 mg/kg (the third experimental group). Rats of the control group (the first group) got distilled water at the same time. For the maximum approximation of the experiment to the natural conditions, the oral route of administration according to the methodological recommendations for the study of the toxicity of metals - by the intragastric probe was chosen. The strand bone was prepared and isolated according to generally accepted techniques.

Research results and its discussion. It was found out that the copper content in the bone tissue was lower than in the control group of animals, under the conditions of low-dose exposure to lead. Thus, the copper concentration decreased by 43.5% ($p < 0.01$) and was 3.87 ± 0.28 mg/kg compared with the control group, the similar figures of which correspond to 6.85 ± 0.7 mg/kg. The resulting effect contributes to a violation of the ratio Zn: Cu, due to copper deficiency, which, in turn, affects the concentration of zinc, proven lead bioanagonist. Consequently, the cascade of violations of the bones' mineral composition can cause certain morphological changes and development of osteopathies.

Among the animals of the third group, the content of the investigated microelement decreased by 44.8% ($p < 0.01$) and was 3.78 ± 0.15 mg/kg compared to the bone tissue of the control group rats. The comparative research of experimental groups indicated that there was no significant difference between the effect of the macro- and nanoacqualate form of lead on the copper content in the bone tissue, that is, lead acetate and lead citrate almost equally contribute to a decrease in the bone content of copper in the average by 44.2%.

Results. During isolated low-dose exposure of lead acetate (lead macrochaperone) and lead citrate (nanoacqualate form) copper content in bone tissue decreases to 43.5% ($p < 0.01$) and 44.8% ($p < 0.01$) respectively. The results of the copper reduction, breaking the ratio Zn: Cu, due to a significant deficit of the latter, affects the concentration of zinc, which is proven lead bioanagonist.

Keywords: lead, micronutrients, bone tissue.

Стаття надійшла 15.09.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування