

МЕТАБОЛИЗМ СВИНЦА И МЕХАНИЗМЫ ЕГО ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ В ОРГАНИЗМЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ (обзор)

Э.Б. МИРЗОЕВ, В.О. КОБЯЛКО, И.В. ПОЛЯКОВА, О.А. ГУБИНА

В России загрязнение окружающей среды соединениями свинца считается наиболее распространенным (В.В. Снакин, 1998). Изучение механизмов влияния, закономерностей поступления в организм, последующего распределения и выведения этого токсичного тяжелого металла необходимо для обоснования допустимых пределов его воздействия на млекопитающих и оценки биологических эффектов. Эти данные постоянно пополняются, а их обобщение требует актуализации с учетом изменения климатических и экологических условий, антропогенных воздействий, расширения географии наблюдений. Процесс всасывания свинца в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) млекопитающих зависит от проницаемости мембраны эпителиальных клеток кишечника. На интенсивность всасывания влияют физико-химические свойства (концентрация, размер частиц, минералогический состав, растворимость соединения в жидкой среде ЖКТ, величина ионного потенциала, атомная масса) и физиологические особенности организма (пол, возраст, живая масса, обмен веществ, беременность, лактация), а также состав рациона и содержание в нем протеина, клетчатки, кальция, цинка, железа, марганца и витамина D (J.A. Jamieson с соавт., 2006; D.J. MacLachlan с соавт., 2016; O.A. Levander, 1979; C.J.C. Phillips с соавт., 2011). В периферической крови свинец транспортируется эритроцитами и накапливается в основном в печени, почках и костной ткани. Токсическое действие свинца на млекопитающих определяется его содержанием в органах и тканях. Из организма свинец выводится с фекалиями и мочой, а также через шерсть, молоко, потовые железы и плод. Период полувыведения металла из мягких тканей и периферической крови составляет 24-40 сут. Токсическое действие свинца в органах и тканях млекопитающих характеризуется снижением количества жизнеспособных клеток (Э.Б. Мирзоев с соавт., 2015). Уменьшение их числа до критического значения приводит к нарушению физиологических функций органов и отравлению организма. В качестве основных механизмов цитотоксического действия ионов Pb^{2+} рассматриваются активация свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нарушение гомеостаза Ca^{2+} (G. Flora с соавт., 2012; A. Roy с соавт., 2016; E.A. Veal с соавт., 2007; A.W. Hartman с соавт., 1995). Механизмы регуляции клеточного метаболизма включают, с одной стороны, изменение интенсивности свободнорадикального ПОЛ, с другой — модификацию состава липидов мембран (Е.Б. Бурлакова, 2007). Усиление свободнорадикального ПОЛ при воздействии свинца обусловлено не только генерацией активных форм кислорода, но и снижением активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы. Изменение состава биологических мембран влияет на активность мембранно-связанных белков (ферментов, каналобразующих белков, рецепторов), что отражается на Ca^{2+} гомеостазе и функционировании клетки в целом (R. Jahn с соавт., 2003; A.H. Kahn-Kirby с соавт., 2004). В проявление цитотоксического эффекта ионов Pb^{2+} вовлечены митохондрии, которые обеспечивают клетки энергией (M. Bragadin с соавт., 2007). Проведенный анализ механизмов действия свинца позволит определить стратегию дальнейших исследований, а также методологию и подходы к решению этой проблемы.

Ключевые слова: свинец, цитотоксическое действие, кальций, кровь, орган, корма, всасывание, перекисное окисление липидов.

Технический прогресс сопровождается ростом антропогенного загрязнения тяжелыми металлами, в частности свинцом и его соединениями. Свинец — глобальный загрязнитель и классический токсикант. В России ежегодно с промышленными выбросами в окружающую среду поступает 0,6-1,4 тыс. т, со сточными водами — 0,05 тыс. т, от автотранспорта — 4 тыс. т этого элемента (1). В ряде регионов его содержание в воздухе, почве и воде превышает предельно допустимые концентрации, что увеличивает вероятность поступления металла в организм животных и человека (2).

Изучение механизмов влияния Pb необходимо для обоснования допустимых пределов его воздействия на млекопитающих и оценки биологических эффектов, обусловленных особенностями метаболизма этого токсичного тяжелого металла в организме. Такие данные постоянно попол-

няются, а их обобщение требует актуализации с учетом изменения климатических и экологических условий, антропогенных воздействий, расширения географии наблюдений.

Цель настоящего обзора — анализ существующих данных о закономерностях поступления, распределения и выведения свинца из организма, а также механизмах его цитотоксического действия.

В организм млекопитающих свинец в основном поступает с кормом и водой. В желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) происходит измельчение и ферментативное расщепление корма, в результате чего металл переходит в состояние, доступное для усвоения. Всасывание свинца в ЖКТ контролируется нервной и эндокринной системами и осуществляется посредством пассивной диффузии, активного транспорта, пиноцитоза и эндоцитоза. Процесс всасывания зависит от проницаемости мембраны эпителиальных клеток кишечника, на его интенсивность влияют физико-химические свойства соединений свинца (размер частиц, минералогический состав, растворимость соединения в жидкой среде ЖКТ) (3-5) и физиологические особенности организма (пол, возраст, живая масса, обмен веществ, беременность, лактация) (6-8), а также состав рациона и содержание в нем кальция, цинка, железа, марганца, витамина D (3, 9).

Один из основных факторов, определяющих резорбцию металла в кровь, — величина ионного потенциала и атомная масса, с увеличением которых доля всасывания снижается. Для свинца этот коэффициент варьирует от 0,05 до 0,2 (10, 11). На биологическую доступность свинца влияет его химическая форма: у ацетата свинца она выше, чем у оксида и сульфида (12). Многие токсичные вещества, хорошо растворимые в питьевой воде, попадая в жидкую среду ЖКТ млекопитающих, образуют нерастворимые гидроксиды. В то же время слабо растворимые в воде вещества в щелочной среде ЖКТ растворяются хорошо и всасываются в кровь через эпителий кишечника (13). В экспериментах на крысах показано, что увеличение дозы ацетата свинца от 1 до 100 мг/кг приводит к снижению его резорбции в ЖКТ от 42 до 2 % (14). Очевидно, что интенсивность всасывания в ЖКТ млекопитающих зависит от количества поступившего металла и носит нелинейный характер. Вероятно, это связано с процессом насыщения активного транспорта ионов Pb^{2+} в эпителии кишечника.

С возрастом резорбция металлов в ЖКТ животных снижается из-за уплотнения мембран клеток кишечника и уменьшения в них диаметра пор. У молодых особей этот процесс протекает более активно, поскольку у растущего организма существует потребность в минеральных веществах и повышена проницаемость мембран клеточной стенки (11). При введении ^{203}Pb в желудок крыс в возрасте 1, 3, 6, 16 и 54 нед удельная активность радионуклида через 3-7 сут составляла соответственно 82-57 %; 2,3 %; 0,4-1,1 %; 0,6 %; 0,3-0,5 % от общей активности (15). Вероятно, выявленные различия обусловлены проницаемостью мембран клеточной стенки и связаны с состоянием регуляторных и защитных механизмов гомеостаза (симпато-адреналовая система, центральная и периферическая нервная система, метаболические системы детоксикации) у животных разного возраста.

Процесс всасывания металлов в ЖКТ млекопитающих зависит от массы тела и интенсивности обмена веществ. У мелких животных потери тепла растут быстрее вследствие увеличения поверхности тела относительно единицы массы. Так, у крыс этот показатель составляет 0,15 м²/кг, у кроликов — 0,072 м²/кг. С активностью обмена веществ связывают различия в резорбции металлов в ЖКТ мужских и женских особей: у крыс-самцов интенсивность всасывания выше, чем у самок (16). У беременных

и лакирующих особей всасывание соединений свинца усиливается (17, 18). Возможно, причина заключается в общей активации физиологических процессов, поскольку в эти периоды повышается всасывание не только ионов Pb^{2+} , но и Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} (19). Более того, в течение беременности и лактации увеличивается синтез металлотioneинов (МТ), участвующих в транспорте элементов из ЖКТ в кровь (20).

Рационы с низким и высоким количеством протеина повышают абсорбцию свинца в ЖКТ крыс по сравнению с его оптимальным содержанием. Так, у крыс, получавших рацион с 3 % протеина, аккумуляция свинца в тканях почек, печени и сердце возрастала соответственно на 52, 32 и 27 %. Аналогичная ситуация наблюдалась при увеличении доли протеина в рационе до 30 %: содержание свинца в изученных органах было выше контроля на 36, 29 и 24 %. В то же время при оптимальном количестве протеина в рационе (15 %) накопление свинца в почках, печени и сердце повышалось соответственно на 24, 14 и 13 % (21). Увеличение доли сырой клетчатки в рационе крупного рогатого скота уменьшает содержание металла в молоке (22): очевидно, что свинец из кормов с высоким процентом клетчатки выщелачивается слабо, поэтому большая часть поступившего в ЖКТ металла не резорбируется и сразу выводится из организма.

Сведения о влиянии витамина D на всасывание свинца в ЖКТ противоречивы. Показано, что при превышении физиологической нормы витамина D в кормах (более 500 МЕ/кг корма) содержание свинца в крови и тканях у цыплят снижается. Напротив, при низких количествах витамина D (до 500 МЕ/кг корма) наблюдался рост этого показателя (23). В то же время с увеличением дозы витамина D в рационе с 3000 до 5000 МЕ/кг у цыплят-бройлеров усиливается накопление свинца в грудных мышцах (24). Возможно, на интенсивность всасывания свинца из кормов влияет содержание не только витамина D, но и Ca^{2+} , поскольку при дефиците Ca^{2+} в рационе резорбция Pb^{2+} в ЖКТ усиливается. Показана высокая корреляция между содержанием в слизистой оболочке кишечника Са-связывающего белка (СаСБ) и проявлением свинцового токсикоза. Предполагается, что СаСБ способствует всасыванию из ЖКТ не только Ca^{2+} , но и Pb^{2+} (23). Следует отметить, что активация СаСБ происходит при участии витамина D. При избыточном содержании в рационе двухвалентные катионы Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} подавляют абсорбцию Pb^{2+} за счет изменения способности последнего прикрепляться к мембране. В то же время при дефиците Fe^{2+} всасывание Pb^{2+} в ЖКТ возрастает, что может быть связано с функционированием белков-переносчиков, ответственных за транспорт Fe^{2+} .

В целом (исключая период новорожденности) из ЖКТ млекопитающих всасывается 3-10 % поступившего металла (25, 26). Предварительное голодание повышает всасывание свинца (27). Показано, что после кормления в тонком кишечнике всасывается 3 % введенного в желудок металла, а натошак — 60 % (28). На моделях вывернутых мешочков отрезков кишечника крыс установлено, что наибольшее количество свинца всасывается в тощей кишке ($702,6 \pm 40,16$ нмоль/г сырой массы), несколько меньшее — в 12-перстной и подвздошной (соответственно $646,7 \pm 28,2$ и $520,8 \pm 21,3$ нмоль/г сырой массы) (29). Кровь, оттекающая от тонкой кишки, поступает в воротную вену и далее в печень. В клетках печени (гепатоцитах) свинец преимущественно накапливается в микросомальной и митохондриальной фракциях. Установлено, что однократное внутрибрюшинное введение ацетата свинца в дозе 62,5 мг/кг характеризуется накоплением металла в митохондриях гепатоцитов крыс-самцов на 1-е сут исследования. В дальнейшем (5-е и 10-е сут) количество Pb^{2+} снижается

при одновременном увеличении числа лизосомальных ультраструктур, особенно лизосом и остаточных телец, что свидетельствует о компенсаторном усилении процессов детоксикации в клетках (30). При действии внутриклеточных ферментов свинец образует в гепатоцитах комплексные соединения с желчными кислотами, с которыми выделяется в просвет тонкого кишечника. Из кишечника часть металла выводится с фекалиями, а другая всасывается вновь (процесс печеночно-кишечной рециркуляции).

Общий пул свинца в организме можно разделить на медленно и быстро обменивающиеся части. Медленно обменивающаяся часть находится в костной ткани, где содержание металла возрастает в течение всей жизни и составляет 80-90 %. Часть металла, которая быстрее включается в обменные процессы, локализуется в мягких тканях, главным образом в почках (8,29 %) и печени (2,20 %), а также в периферической крови (1,00 %) (3, 25, 26). Необходимо подчеркнуть, что 99 % свинца в периферической крови содержится в эритроцитах (31). Свинец в клетках преимущественно находится в цитоплазме, где основным связывающим белком служит дегидратаза δ -аминолевулиновой кислоты (АЛАД), на долю которой приходится от 35 до 84 % общего количества металла. Кроме того, имеются еще два белка с молекулярной массой 10 и 45 кДа (32). В плазме крови большая часть свинца связывается с альбумином и γ -глобулином. Оставшаяся часть образует комплексы с низкомолекулярными соединениями, содержащими сульфгидрильные группы (МТ, цистеин, трансферрин). Следует отметить, что в плазме крови количество ионов Pb^{2+} (то есть несвязанного) ничтожно мало (25, 26, 33).

В период беременности свинец через плаценту поступает в плод посредством простой диффузии. Концентрация металла в крови плода составляет 85-90 % от его содержания в крови матери. К концу антенатального периода развития свинец обнаруживают в органах и тканях плода с преимущественной локализацией в костной ткани (25, 26, 34).

Таким образом, токсическое действие свинца на млекопитающих определяется его накоплением в органах и тканях. При этом содержание свинца в периферической крови можно рассматривать как более надежный показатель, который позволяет частично исключить неопределенность влияния таких факторов, как физико-химические свойства соединения, физиологическое состояние организма, состав рациона.

Свинец выводится с фекалиями и мочой, а также через шерсть, молоко, потовые железы и плод. Основное количество металла, поступившего в ЖКТ, не задерживается в организме и выходит с фекалиями. Через почки удаляется в среднем 30 мкг за счет клубочковой фильтрации, а при высоких концентрациях свинца имеет место и его канальцевая экскреция. Период полувыведения металла из мягких тканей и крови составляет 24-40 сут. Под влиянием ряда причин (лактация, дефицит кальция) происходит мобилизация свинца из депо, что увеличивает его содержание в крови и приводит к развитию токсических эффектов (25, 26, 35).

Токсическое действие Pb в органах и тканях млекопитающих характеризуется снижением количества жизнеспособных клеток (36, 37). Уменьшение их числа до критического приводит к нарушению физиологических функций органов. В качестве основных механизмов цитотоксического эффекта ионов Pb^{2+} рассматривают активацию свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нарушение гомеостаза Ca^{2+} (38-41).

Свободнорадикальное ПОЛ протекает во всех типах мембран и играет важную роль в регуляции клеточного метаболизма в норме. Свобод-

ные радикалы, необходимые для многих биологических процессов, выполняют функцию регуляторных молекул в биохимических реакциях, вовлеченных в пути трансдукции сигнала (42, 43). В этой системе важное место принадлежит сигнальным молекулам активных форм кислорода (АФК): супероксиду анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильному радикалу ($\cdot OH$), оксиду азота (NO^{\cdot}) и пероксиду водорода (H_2O_2). В частности, H_2O_2 генерирует гидроксильные радикалы в присутствии ионов Cu^{2+} и Fe^{2+} по реакциям Хабера-Вейсса (F. Haber, J. Weiss) или Фентона (H.J.H. Fenton). Эти реакции протекают как в объеме цитоплазмы, так и по принципу сайт-специфичности (44).

Механизмы регуляции клеточного метаболизма включают изменение интенсивности свободнорадикального ПОЛ и модификацию состава липидов мембран. Активация ПОЛ характеризуется ускорением выхода легко окисляемых липидов и обогащением мембран резистентными к окислению фракциями (45). Изменение состава биологических мембран влияет на активность мембранно-связанных белков (ферментов, каналообразующих белков, рецепторов), что отражается на функционировании клетки в целом (46, 47).

АФК вовлечены в каскаде биохимических реакций, которые приводят к активации генома и адаптивному синтезу белков, обеспечивающих компенсаторные изменения метаболизма (48). При воздействии свинца образование АФК происходит в результате окисления АЛАД, липидов мембран, активации оксидазы никотинамидадениндинуклеотидфосфата NAD(P)H и ингибирования ферментов антиоксидантной защиты. В периферической крови свинец накапливается в эритроцитах и связывается с δ -АЛАД, которая имеет четыре цинк-связывающих участка. Внутриклеточный свинец ингибирует ферменты, участвующие в синтезе гема, включая δ -АЛА-синтетазу, δ -АЛАД и феррохелатазу (49). Низкое содержание металла (5-7 мкг/дл) в периферической крови снижает активность δ -АЛАД, что приводит к увеличению содержания δ -АЛА в крови и моче (50, 51). Окисленная δ -АЛА генерирует АФК посредством уменьшения активности ферроцитохрома с и переноса электрона с $oxyHb$ и $metHb$ на другие комплексы железа (52, 53). Увеличение концентрации свинца (8 мкг/дл) в периферической крови млекопитающих характеризуется усилением интенсивности свободнорадикального ПОЛ и ростом концентрации малонового диальдегида в плазме крови (54). Генерация АФК происходит в результате повышения активности мембранно-связанной NAD(P)H-оксидазы, которая образует $O_2^{\cdot-}$ из молекулярного кислорода (55). Усиление свободнорадикального ПОЛ при воздействии свинца обусловлено не только генерацией АФК, но и снижением активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ). Их ингибирование связано с высоким сродством свинца к тиоловым группам и его способностью замещать эссенциальные элементы в белках: ионы Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} — в каталитических центрах СОД, ионы Fe^{2+} — в КАТ.

К универсальным механизмам цитотоксичности также относят нарушение гомеостаза Ca^{2+} в клетке (56). Концентрация ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме поддерживается на уровне 10^{-7} моль/л различными компонентами (Ca^{2+} -насос и Ca^{2+} -специфичные каналы), которые локализованы как в клеточной мембране, так и в мембранах внутриклеточных органелл (57). После взаимодействия активатора с клеткой концентрация ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме кратковременно повышается на порядок, что обеспечивает образование комплекса Ca^{2+} -кальмодулин, инициирующего соответствующие метаболические реакции. В частности, ак-

тивируется протеинкиназа С, которая увеличивает скорость фосфорилирования клеточных белков. Одновременно с образованием Ca^{2+} -кальмодулинового комплекса активируются мембранные белки (системы Ca^{2+} - Na^{+} -обмена и Ca^{2+} - Mg^{2+} -АТФазы), осуществляющие перенос ионов Ca^{2+} против градиента концентрации (58). Клеточная мембрана — это динамичная структура, и повреждением ее отдельных участков могут быть инициированы изменения структурного состояния как мембраны в целом, так и мембранного микроокружения Ca^{2+} -насоса и Ca^{2+} -селективных каналов.

Инкубирование эритроцитов человека в течение 1 ч при концентрации свинца в среде инкубации 5 мкмоль/л характеризовалось увеличением количества ионизированного Ca^{2+} и прокоагуляционной активности клеток (59). Рост концентрации ионов Ca^{2+} также наблюдали в спленocyтaх крыс при инкубировании в течение 10 мин в среде при содержании свинца 1 мкмоль/л (60). Увеличение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , возможно, обусловлено нарушением системы регуляции и поддержания Ca^{2+} гомеостаза клетки, в частности активности мембранных белков (системы Ca^{2+} - Na^{+} -обмена и Ca^{2+} - Mg^{2+} -АТФазы). Действительно, у крыс, которые в течение 77 сут с питьевой водой получали свинец в концентрации 750 мг/л, в клетках печени и почек наблюдалось ингибирование активности Na^{+} - K^{+} -АТФазы, Ca^{2+} -АТФазы, Mg^{2+} -АТФазы. При этом содержание металла в периферической крови составляло $55,6 \pm 6,3$ мкг/дл (61). Аналогичные результаты продемонстрированы на эритроцитах крыс, которые в течение 35 сут вместо питьевой воды получали 0,2 % раствор соли свинца, при этом содержание Pb^{2+} в крови животных составило $97,56 \pm 11,8$ мкг/дл (62). Снижение активности белков наблюдали при усилении свободнорадикального ПОЛ.

Ионы Pb^{2+} в концентрациях $1-5 \times 10^3$ мкмоль/л блокируют транспорт ионов Ca^{2+} в эритроцитах человека, ингибируя активность Ca^{2+} - Mg^{2+} -АТФазы (63). Аналогичные результаты получены при содержании Pb^{2+} в среде инкубации от 0,1 до 100 мкмоль/л (64). Предполагается, что ионы Pb^{2+} в концентрациях выше 1 мкмоль/л оказывают прямое действие на сульфгидрильные группы АТФазы, а ниже 1 мкмоль/л — на кальмодулин. На транспорт ионов Ca^{2+} через плазматические мембраны клеток ионы Pb^{2+} могут влиять, прямо воздействуя на потенциал-чувствительные каналы. Вероятно, свинец блокирует области связывания ионов Ca^{2+} на внешней поверхности клеток или нарушает Ca^{2+} -зависимое дефосфорилирование каналов (65). Кроме того, ионы Pb^{2+} оказывают модифицирующее действие на Ca^{2+} -зависимые калиевые каналы. При концентрациях ниже 10 мкмоль/л ионы Pb^{2+} их активируют, а выше — ингибируют (66).

Оценка активности протеинкиназы С при инкубировании клеток мозга крыс с ионами Pb^{2+} выявила ее увеличение при отсутствии в среде ионов Ca^{2+} (67). Установлено, что коэффициент активации протеинкиназы С ионами Pb^{2+} в 4800 раз ниже, чем ионами Ca^{2+} (соответственно $5,5 \times 10^{-5}$ и 25 мкмоль/л), но максимальные значения активности фермента регистрируют в присутствии ионов Ca^{2+} . Причина в том, что протеинкиназа С имеет несколько сайтов связывания ионов Ca^{2+} , причем ионы Pb^{2+} более эффективно связываются с первыми из этих сайтов (68).

Ионы Pb^{2+} влияют на некоторые клеточные функции кальмодулина, включая активацию кальмодулин-зависимой фосфодиэстеразы, посредством включения в Ca^{2+} -связывающие области. Сродство ионов Pb^{2+} к Ca^{2+} -связывающим сайтам кальмодулина сравнимо с таковым у ионов Ca^{2+} (69), хотя продемонстрированы и более низкие значения (70).

В механизмах цитотоксического действия ионов Pb^{2+} определен-

ную роль играют митохондрии, которые обеспечивают клетки энергией. Следует отметить, что низкие количества АФК в клетках поддерживаются за счет окислительного фосфорилирования в митохондриях. Токсическое действие ионов Pb^{2+} на клетки ренальных канальцев и эпителиальных клеток сопровождается изменением их формы, структуры и размеров митохондрий, что может быть связано с преимущественным накоплением металла в митохондриальной фракции (71, 72). Кроме того, отмечают нарушение трансмембранного транспорта ионов, которое приводит к изменению Ca^{2+} гомеостаза. Причем ионы Pb^{2+} ингибируют поток ионов Ca^{2+} в митохондрии при одновременном стимулировании его выхода из органелл (73, 74). При воздействии свинца наблюдаются снижение мембранного потенциала и набухание митохондрий, в результате чего открываются поры во внутренней мембране (75). Предполагается, что ионы Pb^{2+} непосредственно связываются с Ca^{2+} -сайтами в порах митохондрий. Необходимо подчеркнуть, что открытие пор обусловлено повышением концентрации $O_2^{\cdot-}$ или его продуктов, а закрытие — снижением его содержания. Длительное открытие пор приводит к апоптозу и гибели клетки (76, 77).

Таким образом, накопленные данные дают представление об особенностях метаболизма и механизмах цитотоксического действия свинца на млекопитающих и позволяют выделить ряд внешних и внутренних факторов, влияющих на эти процессы (физико-химические свойства соединений свинца, физиологические особенности организма, содержание белка, клетчатки, витамина D, микро- и макроэлементов в рационе). Наибольшее накопление металла происходит в костях, почках и печени, в ряде случаев свинец мобилизуется из депо. Активация процесса свободнорадикального перекисного окисления липидов и нарушение гомеостаза Ca^{2+} — основные механизмы цитотоксического действия ионов Pb^{2+} . При воздействии свинца усиливается свободнорадикальное перекисное окисление липидов вследствие генерации активных форм кислорода и снижения активности супероксиддисмутазы и каталазы. Биологические мембраны и митохондрии также вовлечены в проявление цитотоксического эффекта ионов Pb^{2+} . На основе выявленных закономерностей поступления, распределения и выведения Pb из организма млекопитающих должна строиться стратегия контроля этого токсиканта в объектах среды.

ФГБУ Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии,
249032 Россия, Калужская обл., г. Обнинск, Киевское ш., 109 км,
e-mail: mirzoev.ed@yandex.ru ✉, kobyalko@yandex.ru, irinaamchenki-
na@mail.ru, olgubina@yandex.ru

Поступила в редакцию
7 июля 2016 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 6, pp. 1131-1141

METABOLISM AND MECHANISMS OF CYTOTOXIC ACTION OF THE LEAD IN MAMMALS (review)

E.B. Mirzoev, V.O. Kobyalko, I.V. Polyakova, O.A. Gubina

Russian Research Institute of Radiology and Agroecology, 109 km, Kievskoe sh., Obninks, Kaluzhskaya Province, 249032 Russia, e-mail mirzoev.ed@yandex.ru (✉ corresponding author), kobyalko@yandex.ru, irinaamchenki-na@mail.ru, olgubina@yandex.ru

ORCID:

Mirzoev E.B. orcid.org/0000-0002-3182-9466

Polyakova I.V. orcid.org/0000-0003-1602-7921

Kobyalko V.O. orcid.org/0000-0001-8542-7748

Gubina O.A. orcid.org/0000-0002-4413-8373

The authors declare no conflict of interests

Received July 7, 2016

doi: 10.15389/agrobiol.2018.6.1131eng

Abstract

The real ecological situation in the Russian Federation is characterized by environmental

pollution with lead compounds (V.V. Snakin, 1998). The mode of action, intake, distribution in animal body and excretion of this toxic heavy metal are substantial to establish its permissible limits and biological effects. These data are constantly replenished and require updating to reflect changes in climatic and environmental conditions, anthropogenic impacts, and geographic differences. Absorption of lead in the gastrointestinal tract (GIT) of mammals depends on the permeability of the membrane of intestinal epithelial cells and is influenced by physicochemical properties of a compound (concentration, particle size, mineralogical composition, solubility in the liquid environment of GIT, ionic potential, atomic mass), physiological features of an organism (metabolism, body weight, age, gender, pregnancy, lactation), the diet composition and levels of protein, cellulose, calcium, zinc, iron, manganese, and vitamin D (J.A. Jamieson et al., 2006; D.J. MacLachlan et al., 2016; O.A. Levander, 1979; C.J.C. Phillips et al., 2011). These factors characterize the parameters of uncertainty, which are partially excluded in determining the content of lead in the peripheral blood of mammals. In peripheral blood, lead is transported by red blood cells and accumulates mainly in the liver, kidneys and bones. In fact, the toxic effect of lead on mammals depends on its accumulation in organs and tissues. Lead is excreted from mammals with faeces and urine, as well as through wool, milk, sweat glands and fetus. The half-life of the metal from the soft tissues and peripheral blood is 24-40 days. The toxic effect of lead on the organs and tissues is due to a decrease in the cell number of (E.B. Mirzoev et al., 2015). Reducing of viable cell number to a certain critical level leads to functional violations and toxic effects. Activation of free radical lipid peroxidation (LPO) and violation of Ca^{2+} homeostasis are the main mechanisms of cytotoxic action of Pb^{2+} ions (G. Flora et al., 2012; A. Roy et al., 2016; E.A. Veal et al., 2007; A.W. Harman et al., 1995). Mechanisms of regulation of cellular metabolism include, on the one hand, changes in the intensity of the process of free radical LPO, and on the other hand, modifications of the lipid composition of membranes (E.B. Burlakova, 2007). Activation of free radical LPO by lead is due not only to the generation of reactive oxygen species, but also to a decrease in the activity of antioxidant enzymes, superoxide dismutase and catalase. Changes in the composition of biological membranes affect the activity of membrane-bound proteins, i.e. enzymes, channel-forming proteins, receptors, which affects Ca^{2+} homeostasis and cell functioning a whole (R. Jahn et al., 2003, A.H. Kahn-Kirby et al., 2004). Mitochondria which provide cells with energy play a role in the cytotoxic action of Pb^{2+} ions (M. Bragadin et al., 2007). The big data analysis on Pb pollution will determine the strategy for further study of lead action, as well as the methods to solve the problem.

Keywords: lead, cytotoxic effect, calcium, blood, organ, feed, absorption, lipid peroxidation.

REFERENCES

1. Snakin V.V. *Vestnik RAN*, 1998, 68(3): 214-224 (in Russ.).
2. *Doklad o svintsovom zagryaznenii okruzhayushchei sredy Rossiiskoi Federatsii i ego vliyani na zdorov'e naseleniya* [Report on lead pollution of the environment of the Russian Federation and its impact on public health]. Moscow, 1997 (in Russ.).
3. *Gigienicheskie kriterii sostoyaniya okruzhayushchei sredy. Vypusk 3. Svinets* [Hygienic criteria for the state of the environment. Issue 3. Lead]. Zheneva, 1980 (in Russ.).
4. Jamieson J.A., Taylor C.G., Weiler H.A. Marginal zinc deficiency exacerbates bone lead accumulation and high dietary zinc attenuates lead accumulation at the expense of bone density in growing rats. *Toxicol. Sci.*, 2006, 92(1): 286-294 (doi: 10.1093/toxsci/kfj201).
5. Levander O.A. Lead toxicity and nutritional deficiencies. *Environ. Health Persp.*, 1979, 29: 115-125.
6. Phillips C.J.C., Mohamed M.O., Chiy P.C. Effects of duration of exposure to dietary lead on rumen metabolism and the accumulation of heavy metals in sheep. *Small Ruminant Research*, 2011, 100:113-121 (doi: 10.1016/j.smallrumres.2011.06.004).
7. Elgawish R.A.R., Abdelrazek H.M.A. Effects of lead on testicular function and caspase-3 expression with respect to the protective effect of cinnamon in albino rats. *Toxicology Reports*, 2014, 1: 795-801 (doi: 10.1016/j.toxrep.2014.10010).
8. Pareja-Carrera J., Mateo R., Rodrigues-Estival J. Lead (Pb) in sheep exposed to mining pollution: Implications for animal and human health. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 108: 210-216 (doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.07.014).
9. MacLachlan D.J., Budd K., Connolly J., Derrick J., Penrose L., Tobin T. Arsenic, cadmium, cobalt, copper, lead, mercury, molybdenum, selenium and zinc concentrations in liver, kidney and muscle in Australian sheep. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2016, 50: 97-107 (doi: 10.1016/j.jfca.2016.05.015).
10. Moskalev Yu.I. *Mineral'nyi obmen* [Mineral metabolism]. Moscow, 1985 (in Russ.).
11. *Sel'skokhozyaistvennaya radioekologiya /Pod redaktsiei R.M. Aleksakhina, N.A. Korneeva* [Agricultural radioecology. R.M. Aleksakhin, N.A. Korneev (eds.). Moscow, 1992 (in Russ.).
12. Dieter M., Mathews H.B., Jeffcoat R.A., Moseman R.F. Comparison of lead bioavailability in F344 rats fed lead acetate, lead oxide, lead sulfide, or lead ore concentrate from Skagway, Alas-

- ka. *J. Toxicol. Env. Health*, 1993, 39(1): 79-93 (doi: 10.1080/15287399309531737).
13. Korneev N.A., Sirotkin A.N. *Osnovy radioekologii sel'skokhozyaystvennykh zhitovnykh* [Basics of radioecology of farm animals]. Moscow, 1987 (in Russ.).
 14. Aungst B.J., Dolce J.A., Fung H.L. The effect of dose on the disposition of lead in rats after intravenous and oral administration. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 1981, 61(1): 48-57 (doi: 10.1016/0041-008X(81)90006-5).
 15. Kostial K. Specific features of metal absorption in suckling animals. In: *reproductive and developmental toxicity of metals*. T.W. Clarkson, G.F. Nordberg, P.R. Sager (eds.). Springer, Boston, MA, 1983: 727-744.
 16. Trakhtenberg I.M., Sova R.E., Shteftel' V.O., Onikienko F.A. *Problema normy v toksikologii (sovremennye predstavleniya i metodicheskie podkhody, osnovnye parametry i konstanty)* [The norm in toxicology (modern concepts and methodological approaches, basic parameters and constants)]. Moscow, 1991 (in Russ.).
 17. Bellinger D.C. Teratogen update: lead and pregnancy. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 2005, 73: 409-425 (doi: 10.1002/bdra.20127).
 18. Keller C.A., Doherty R.A. Bone lead mobilization in lactating mice and lead transfer to suckling offspring. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 1980, 55: 220-228.
 19. Bhattacharyya M.H. Bioavailability of orally administered cadmium and lead to the mother, fetus and neonate during pregnancy and lactation: an overview. *Sci. Total Environ.*, 1983, 28(1-3): 327-342 (doi: 10.1016/s0048-9697(83)80030-8).
 20. Solaiman D., Jonah M.M., Miyazaki W., Ho G., Bhattacharyya M.H. Increased metallothionein in mouse liver, kidneys and duodenum during lactation. *Toxicol. Sci.*, 2001, 60: 184-192.
 21. Andriyanova T.G. *Morfologicheskie i funktsional'nye izmeneniya v organakh i tkanyakh zhitovnykh pri postuplenii v organizm soedinenii svintsa i kadmiya. Avtoreferat doktorskoi dissertatsii* [Morphological and functional changes in the organs and tissues of animals when lead and cadmium compounds enter the body. DSc. Thesis]. Moscow, 2003 (in Russ.).
 22. Il'yazov R.G., Akhmetzyanov F.K., Zaisanov R.R., Gilemkanov M.I. V knige: *Problemy radiologii i agroekologii: Doklady nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 40-letiyu osnovaniya GNU VNIISKHRAE Rossel'khozakademii* /Pod redaktsiei R.M. Aleksakhina [Challenges in radiology and agroecology: Proc. of the conference dedicated to the 40th anniversary of VNIIShRAE. R.M. Aleksakhin (ed.)] Obninsk, 2012: 295-300 (in Russ.).
 23. Andrushaite R.E., Gailite B.E. *Doklady VASKHNIL*, 1987, 10: 35-37 (in Russ.).
 24. Gracheva O.G., Bokova T.I. *Trudy Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2003, 183(1): 287-292 (in Russ.).
 25. *U.S. Environmental Protection Agency. Air quality criteria for lead. (Final Report, 2006)*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-5/144aF-bF, 2006.
 26. *U.S. Environmental Protection Agency. Integrated science assessment (ISA) for lead (Final Report, Jul. 2013)*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-10/075F, 2013.
 27. Lugovskoi S.P., Legkostup L.A. *Sovremennye problemy toksikologii*, 2002, 2: 45-50 (in Russ.).
 28. Lyubchenko P.N. *Intoksikatsionnye zabolevaniya organov pishchevareniya* [Intoxication diseases of the digestive system]. Voronezh, 1990 (in Russ.).
 29. Lugovskii S.P. *Fiziologichnii zhurnal*, 2001, 47(2): 41-45 (in Russ.).
 30. Lugovskoi S.P. *Sovremennye problemy toksikologii*, 2004, 1: 22-26 (in Russ.).
 31. Smith D., Hernandez-Avila M., Téllez-Rojo M.M., Mercado A., Hu H. The relationship between lead in plasma and whole blood of women. *Environ. Health Persp.*, 2002, 110(3): 263-268 (doi: 10.1289/ehp.02110263).
 32. Bergdahl I.A., Sheveleva M., Schütz A., Artamonova V.G., Skerfving S. Plasma and blood lead in humans: capacity-limited binding to δ -aminolevulinic acid dehydratase and other lead-binding components. *Toxicol. Sci.*, 1998, 46(2): 247-253 (doi: 10.1093/toxsci/46.2.247).
 33. Al-Modhefer A.J.A., Bradbury M.W.B., Simons T.J.B. Observations on the chemical nature of lead in human blood serum. *Clin. Sci.*, 1992, 81(6): 823-829 (doi: 10.1042/cs0810823).
 34. Carbone R., Laforgia N., Crollo E., Mautone A., Iolascon A. Maternal and neonatal lead exposure in southern Italy. *Biol. Neonate*, 1998, 73: 362-366 (doi: 10.1159/000013998).
 35. *IPCS Environmental health criteria 165. Inorganic lead. World Health Organization*. Geneva, 1995.
 36. Mirzoev E.B., Kobyalko V.O., Polyakova I.V., Gubina O.A., Frolova N.A. Content of metallothioneins in the organs of sheep under chronic intake of lead with ration. *Sel'skokhozyaystvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2015, 50(6): 839-846 (doi: 10.15389/agrobiol.2015.6.839rus).
 37. Mirzoev E.B., Kobyalko V.O., Polyakova I.V., Gubina O.A., Frolova N.A. *Toksikologicheskii vestnik*, 2015, 6: 32-36 (in Russ.).
 38. Roy A., Kordas K. The relation between low-level lead exposure and oxidative stress: a review of the epidemiological evidence in children and non-occupationally exposed adults. *Curr. Envir. Health Rpt.*, 2016, 3: 478-492 (doi: 10.1007/s40572-016-0115-y).
 39. Ighodaro O.M., Akinloye O.A. First line defense antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidants defense grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 2018, 54: 287-293 (doi:

- 10.1016/j.ajme.2017.09.001).
40. Flora G., Gupta D., Tiwani A. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip. Toxicol.*, 2012, 5(2): 47-58 (doi: 10.2478/v10102-012-0009-2).
 41. Reddy U.A., Prabhakar P.V., Rao G.S., Rao P.R., Sander K., Rahman M.F., Kumari S.I., Grover P., Khan H.A., Mahboob M. Biomarkers of oxidative stress in rat for assessing toxicological effects of heavy metal pollution in river water. *Envir. Sci. Pollut. Res.*, 2015, 22(17): 13453-13463 (doi: 10.1007/s11356-015-4381-2).
 42. Linnane A.W., Kios M., Vitetta L. Healthy aging: regulation of the metabolome by cellular redox modulation and prooxidant signaling systems: the essential roles of superoxide anion and hydrogen peroxide. *Biogerontology*, 2007, 8(5): 445-467 (doi: 10.1007/s10522-007-9096-4).
 43. Veal E.A., Day A.M., Morgan B.A. Hydrogen peroxide sensing and signaling. *Mol. Cell*, 2007, 26(1): 1-14 (doi: 10.1016/j.molcel.2007.03.016).
 44. Sandström B.E. Effects of quin2 acetoxymethyl ester on H₂O₂-induced DNA single-strand breakage in mammalian cells: H₂O₂-concentration-dependent inhibition of damage and additive protective effect with the hydroxyl-radical scavenger dimethyl sulphoxide. *Biochem. J.*, 1995, 305(1): 181-185 (doi: 10.1042/bj3050181).
 45. Burlakova E.B., Khrapova N.G. *Uspekhi khimii*, 1985, 54(9): 1540-1558 (in Russ.).
 46. Jahn R., Lang T., Südhof T.C. Membrane fusion. *Cell*, 2003, 112(4): 519-533 (doi: 10.1016/s0092-8674(03)00112-0).
 47. Kahn-Kirby A.H., Danzcker L.M., Apicella A.J. Specific polyunsaturated fatty acids drive TRPV-dependent sensory signaling in vivo. *Cell*, 2004, 119(6): 889-900 (doi: 10.1016/j.cell.2004.11.005).
 48. Burlakova E.B. *Materialy Mezhdunarodnoi konferentsii «Novye napravleniya v radiobiologii»* [Proc. Int. Conf. "New aspects of radiobiology"]. Moscow, 2007: 3-9 (in Russ.).
 49. Simons T.J.B. The affinity of human erythrocyte porphobilinogen synthase for Zn²⁺ and Pb²⁺. *FEBS J.*, 1995, 234(1): 178-183 (doi: 10.1111/j.1432-1033.1995.178_c.x).
 50. Ahamed M., Verma S., Kumar A., Siddigui M.K.J. Delta-aminolevulinic acid dehydratase inhibition and oxidative stress in relation to blood lead among urban adolescents. *Hum. Exp. Toxicol.*, 2006, 25(9): 547-553 (doi: 10.1191/0960327106het657oa).
 51. Sakai T., Morita Y. δ-Aminolevulinic acid in plasma or whole blood as a sensitive indicator of lead effects, and its relation to the other home-related parameters. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1996, 68(2): 126-132 (doi: 10.1007/BF00381245).
 52. Hermes-Lima M., Pereira B., Bechara E.J.H. Are free radicals involved in lead poisoning? *Xenobiotika*, 1991, 21(8): 1085-1090 (doi: 10.3109/00498259109039548).
 53. Monteiro M.F., Abdalla D.S.P., Augusto O., Bechara E.J.H. Free radicals generation during delta-aminolevulinic acid autoxidation: induction by hemoglobin and connections with porphyriopathies. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1989, 271(1): 206-216 (doi: 10.1016/0003-9861(89)90271-3).
 54. Khan D.A., Qayyum S., Saleem S., Khan F.A. Lead-induced oxidative stress adversely affects health of the occupational workers. *Toxicol. Ind. Health*, 2008, 24(9): 611-618 (doi: 10.1177/0748233708098127).
 55. Ni Z., Hou S., Barton C.H., Vaziri N.D. Lead exposure raises superoxide and hydrogen peroxide in human endothelial and vascular smooth muscle cells. *Kidney Int.*, 2004, 66(6): 2329-2336 (doi: 10.1111/j.1523-1755.2004.66032.x).
 56. Harman A.W., Maxwell M.J. An evaluation of the role of calcium in cell injury. *Annu. Rev. Pharmacol.*, 1995, 35: 129-144 (doi: 10.1146/annurev.pa.35.040195.001021).
 57. Orlov S.N. *Uspekhi sovremennoi biologii*, 1981, 91(1): 19-34 (in Russ.).
 58. Carafoli E. Calcium — a universal carrier of biological signals. *FEBS J.*, 2005, 272(5): 1073-1089 (doi: 10.1111/j.1742-4658.2005.04546.x).
 59. Shin J.H., Lim K.M., Noh J.Y., Bae O.N., Chung S.M., Lee M.Y., Chung J.H. Lead-induced procoagulant activation of erythrocytes through phosphatidylserine exposure may lead to thrombotic diseases. *Chem. Res. Toxicol.*, 2007, 20(1): 38-43 (doi: 10.1021/tx060114+).
 60. Li S., Zhengyan Z., Xielai Z., Suhang L. The effect of lead on intracellular Ca²⁺ in mouse lymphocytes. *Toxicol. In Vitro*, 2008, 22(8): 1815-1819 (doi: 10.1016/j.tiv.2008.08.005).
 61. Kharoubi O., Slimani M., Aoues A., Seddik L. Prophylactic effects of Wormwood on lipid peroxidation in an animal model of lead intoxication. *Indian Journal of Nephrology*, 2008, 18(2): 51-57 (doi: 10.4103/0971-4065.42333).
 62. Sivaprasad R., Nagaraj M., Varalakshmi P. Combined efficacies of lipoic acid and meso-2,3-dimercaptosuccinic acid on lead-induced erythrocyte membrane lipid peroxidation and antioxidant status in rats. *Hum. Exp. Toxicol.*, 2003, 22(4): 183-192 (doi: 10.1191/0960327103ht335oa).
 63. Calderón-Salinas J.V., Quintanar-Escorza M.A., Hernández-Luna C.E., González-Martínez M.T. Effect of lead on the calcium transport in human erythrocyte. *Hum. Exp. Toxicol.*, 1999, 18(3): 146-153 (doi: 10.1177/096032719901800303).
 64. Mas-Oliva J. Effect of lead on the erythrocyte (Ca²⁺-Mg²⁺)-ATPase activity *Calmodulin involvement*. *Mol. Cell. Biochem.*, 1989, 89(1): 87-93 (doi: 10.1007/BF00228283).
 65. Sun L.R., Suszkiw J.B. Extracellular inhibition and intracellular enhancement of Ca²⁺ currents by Pb²⁺ in bovine adrenal chromaffin cells. *J. Neurophysiol.*, 1995, 74(2): 574-581 (doi: 10.1152/jn.1995.74.2.574).

66. Fehlau R., Grygorczyk R., Fuhrmann G.F., Schwarz W. Modulation of the Ca²⁺- or Pb²⁺-activated K⁺-selective channels in human red cells. 2. Parallelisms to modulation of the activity of a membrane-bound oxidoreductase. *Biochim. Biophys. Acta*, 1989, 978: 37-42.
67. Markovac J., Goldstein G.W. Picomolar concentrations of lead stimulate brain protein kinase C. *Nature*, 1988, 334(6177): 71-73 (doi: 10.1038/334071a0).
68. Long G.J., Rosen J.F., Schanne F.A.X. Lead activation of protein kinase C from rat brain. Determination of free calcium, lead and zinc by 19F NMR. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269(2): 834-837.
69. Habermann E., Growell K., Janicki P. Lead and other metals can substitute for Ca²⁺ in calmodulin. *Arch. Toxicol.*, 1983, 54(1): 61-70 (doi: 10.1007/BF00277816).
70. Richardt G., Federolf G., Habermann E. Affinity of heavy metal ions to intracellular Ca²⁺-binding proteins. *Biochem. Pharmacol.*, 1986, 35(8): 1331-1335 (doi: 10.1016/0006-2952(86)90278-9).
71. Wang L., Wang Z., Liu J. Protective effect of N-acetylcysteine on experimental chronic lead nephrotoxicity in immature female rats. *Hum. Exp. Toxicol*, 2010, 29(7): 581-591 (doi: 10.1177/0960327109357270).
72. Marchlewicz M., Baranowska-Bosiaska I., Kolasa A., Kondarewicz A., Chlubek D., Wiszniewska B. Disturbances of energetic metabolism in rat epididymal epithelial cells as a consequence of chronic lead intoxication. *BioMetals*, 2009, 22(6): 877-887 (doi: 10.1007/s10534-009-9238-z).
73. Parr D.R., Harris E.J. The effect of lead on the calcium-handling capacity of rat heart mitochondria. *Biochemistry*, 1976, 158: 289-294.
74. Simons T.J.B. Lead-calcium interactions in cellular lead toxicity. *Neurotoxicology*, 1993, 14(2-3): 77-85.
75. Bragadin M., Marton D., Manente S. Trialkyllead compounds induce the opening of the MTP pore in rat liver mitochondria. *J. Inorg. Biochem.*, 2007, 101(5): 876-878 (doi: 10.1016/j.jinorgbio.2007.01.016).
76. Skulachev V.P. *Biokhimiya*, 1996, 61(11): 2060-2063 (in Russ.).
77. Rana S.V.S. Metals and apoptosis: recent developments. *J. Trace Elem. Med. Bio.*, 2008, 22(4): 262-284 (doi: 10.1016/j.jtemb.2008.08.002).