

SELENO IR ŠVINO ĮTAKA KRAUJO  $\delta$ -AMINOLEVULINO RŪGŠTIES DEHIDRATAZĖS AKTYVUMUI *IN VITRO*Stanislovas Ryselis<sup>1</sup>, Dalia Baranauskienė<sup>1</sup>, Olegas Abdrachmanovas<sup>1</sup>, Andrius Stepaniukas<sup>2</sup>, Kęstutis Šerėnas<sup>2</sup><sup>1</sup>Kauno medicinos universiteto Biomedicininų tyrimų institutas, Eivenių g. 7, LT-50009 Kaunas;

tel. (8-37) 30 29 48

<sup>2</sup>Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas; tel. (8-37) 36 22 57

**Santrauka.** Darbe *in vitro* ištirtas selenido anijono ( $\text{Se}^{2-}$ ), švino katijono ( $\text{Pb}^{2+}$ ) ir jo ligandinio anijono – acetato ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) poveikis fermento  $\delta$ -aminolevulino rūgšties dehidratazės ( $\delta$ -ALRD) aktyvumui žmonių ir gyvūnų kraujyje. Poveikis tirtas keturiais būdais: didinant  $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją kraujyje natūraliai buvusios jame  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijos fone ir dirbtinai sudarius veiklią nekintamą  $\text{Pb}^{2+}$  koncentraciją bei didinant  $\text{Pb}^{2+}$  koncentraciją kraujyje, kai jame nėra  $\text{Se}^{2-}$ , ir dirbtinai sudarius veiklią pastovią  $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją. Gautos nuoseklios daugiataškės priklausomybės parodė, kad  $\delta$ -ALRD aktyvumas žmonių ir galvijų kraujyje veikiamas  $\text{Se}^{2-}$  kinta analogiškai.  $\text{Se}^{2-}$  jonų apsauginis poveikis esant didesnėms  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijoms žmonių kraujyje yra mažesnis, nei esant natūraliai  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijai. Mažas  $\text{Se}^{2-}$  kiekis nežymiai didina fermento aktyvumą ir pasiekiami maksimali jo vertė, o didelis – visiškai inaktyvuoja  $\delta$ -ALRD. Mažas  $\text{Pb}^{2+}$  jonų kiekis staiga sumažina fermento aktyvumą (minimumas kreivėje), didesnis – nežymiai jį padidina (maksimumas kreivėje), o didelis  $\text{Pb}^{2+}$  jonų kiekis fermentą inhibuoja.  $\text{Pb}^{2+}$  jonų inhibicinis poveikis kraujo  $\delta$ -ALRD aktyvumui, nustatytas pagal inhibicijos šuolio padėtį daugiataškėje priklausomybėje, yra žymiai mažesnis, kai kraujyje yra  $\text{Se}^{2-}$  priedo, negu tada, kai kraujyje  $\text{Se}^{2-}$  nėra. Nustatytas ir įvertintas nedidelis acetato anijono poveikis  $\delta$ -ALRD aktyvumui šuns kraujyje.

**Raktažodžiai:** švinas, selenas, acetatas, kraujas,  $\delta$ -aminolevulino rūgšties dehidratazė, aktyvumas.

INFLUENCE OF SELENIUM AND LEAD ON THE ACTIVITY OF  $\delta$ -AMINOLEVULINIC ACID DEHYDRATASE *IN VITRO*

**Summary.** The influence of selenide anions ( $\text{Se}^{2-}$ ), lead cations ( $\text{Pb}^{2+}$ ) and the ligand anions – acetate ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) on the activity of enzyme  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase ( $\delta$ -ALAD) *in vitro* was investigated. The analysis was performed in human and animal blood in a several different ways: increasing the concentration of  $\text{Se}^{2-}$  additives on the base of background  $\text{Pb}^{2+}$  and added the fixed concentration of active  $\text{Pb}^{2+}$  additive, and increasing the concentration of  $\text{Pb}^{2+}$ , and in the absence or presence of fixed additive of the  $\text{Se}^{2-}$  ions. The obtained curves of the consecutive multi-dot dependences showed that the influence of  $\text{Se}^{2-}$  ions on the  $\delta$ -ALAD activity in human and bovine blood is analogical. The protective influence of  $\text{Se}^{2-}$  ions in the presence of  $\text{Pb}^{2+}$  additives in human blood is lower than that only background  $\text{Pb}^{2+}$  concentrations. The diminutive concentrations of  $\text{Se}^{2-}$  ions slightly changed the  $\delta$ -ALAD activity penetrating its maximum, while high concentrations inhibit the activity of enzyme. Therefore the diminutive  $\text{Pb}^{2+}$  concentrations steeply reduce the  $\delta$ -ALAD activity penetrating its minimum, higher ones slightly change the enzyme activity penetrating the maximum, and high concentrations of lead ions inhibit the activity of enzyme. The inhibiting influence of  $\text{Pb}^{2+}$  ions on the blood  $\delta$ -ALAD activity, have been assessed while evaluating the position of inhibition leap in the curve of the consecutive multi-dot dependences, in the presence of  $\text{Se}^{2-}$  ions is lower than that in case of the absence of  $\text{Se}^{2-}$  ions in blood. The estimated influence of acetate anions on the activity on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase in dog's blood was moderate.

**Keywords:** lead, selenium, acetate, blood,  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase, activity.

**Įvadas.** Selenas yra būtinas mikroelementas, pasižymintis apsauginiu poveikiu esant apsinuodijimui sunkiaisiais metalais. Per mažas seleno kiekis maisto dietoje sukelia įvairių rūšių vėžį, o per didelis yra toksiškas įvairiems žinduoliams: galvijams, avims, kiaulėms, žiurkėms ir, žinoma, žmonėms (Navarro-Alarcon, Lopes-Martinez, 2000). Žinoma, kad švinas ir selenas veikia gyvųjų organizmų kraujodaros grandinę, kurioje kraujo hemo biosintezės pradžioje fermentas  $\delta$ -aminolevulino rūgšties dehidratazė ( $\delta$ -ALRD) katalizuoja dviejų  $\delta$ -aminolevulino rūgšties ( $\delta$ -ALR) molekulių kondensaciją į monopirollo porfobilinogeno heterociklą (Julio et al., 2003).  $\delta$ -ALRD sudėtyje yra 28 sulfhidrilinės ( $-\text{SH}$ ) grupės, todėl jos aktyvumas labai jautrus tiems cheminiams elementams, kurie stipriai sąveikauja su  $-\text{SH}$

grupėmis. Du iš tokių elementų yra sunkusis metalas švinas (Pb) ir nemetalas selenas (Se). Pb jonai pakeičia aktyviojo cinko jonus, esančius fermento aktyviajame centre, ir inhibuoja  $\delta$ -ALRD, o Se junginiai oksiduoja  $-\text{SH}$  grupes. Sumažėjus  $\delta$ -ALRD aktyvumui, slopinama hemo biosintezė, ir ląstelėse kaupiasi  $\delta$ -aminolevulino rūgštis, kuri pasižymi kenksmingu prooksidaciniu poveikiu. Neorganiniai seleno junginiai (pvz., selenitai, turintys  $\text{SiO}_3^{2-}$  joną)  $-\text{SH}$  grupių oksidacijoje organizme virsta  $\text{RSSeSR}$  tipo organiniais selenodisulfidais (organiniais selenidais) (Julio et al., 2003), todėl tyrimams parinktas kalio selenidas –  $\text{K}_2\text{Se}$ , kaip  $\text{Se}^{2-}$  jonų donoras, ir organinis švino acetatas –  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , kaip  $\text{Pb}^{2+}$  jonų donoras.

**Medžiagos ir metodai.** Bandymai atlikti *in vitro*.

Tyrimams buvo naudojamas ką tik paimtas kraujas ir į jį įpilta nedaug įvairios koncentracijos kalio selenido ir švino acetato tirpalų. Seleno ir švino priedų koncentracija kraujyje buvo analizuojama „Perkin-Elmer Zeeman / 3030“ elektrotermografine atominė absorbcine spektrofotometrine sistema G. Schlemmerio aprašytais metodais (Schlemmer, 1989).  $\delta$ -ALRD aktyvumas buvo nustatomas klasikine spektrofotometrija A. Berlin ir K. H. Schaller aprašytu būdu (Berlin, Schaller, 1974).

**Tyrimų duomenys ir jų aptarimas. Darbo tikslas** buvo ištirti švino katijono, jo ligandinio anijono – acetato ir seleno anijono – selenido poveikį  $\delta$ -ALRD aktyvumui kraujyje keturiais būdais: didinant  $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją kraujyje, kuriame natūraliai buvo nedidelė  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracija, pakartojant šį tyrimą dirbtinai sudarius pastovią didesnę, bet veiklią  $\text{Pb}^{2+}$  koncentraciją kraujyje ir didinant  $\text{Pb}^{2+}$  koncentraciją kraujyje, į kurią nebuvo įdėta  $\text{Se}^{2-}$ , ir pakartojant šį tyrimą dirbtinai sudarius pastovią didesnę, bet veiklią  $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją. Tyrimais buvo siekiama gauti nuoseklias daugiataškes priklausomybes, rodančias, kaip kinta  $\delta$ -ALRD aktyvumas pamažu didinant jonų koncentraciją. Kadangi atlikti tokius tyrimus gyvo organizmo sąlygomis (*in vivo*) neįmanoma, tyrimai *in vivo* pakeisti paprastesniais tyrimais *in vitro*. Siekta atlikti gautų priklausomybių analizę, pagrindiniais kriterijais laikant  $\delta$ -ALRD aktyvumo ekstremumą (maksimumą, minimumą) bei aktyvumo kitimo (inhibicijos šuolio) postūmio priklausomybę nuo apsauginių arba toksiškųjų  $\text{Se}^{2-}$  koncentracijų poveikio natūralios ir dirbtinės kraujo taršos  $\text{Pb}^{2+}$  jonais fone. Taip pat siekta palyginti žmogaus ir gyvūnų kraujo tyrimus, įvedant naują konstantą – inhibicijos pusės šuolio koncentraciją ( $I_{1/2}$ ), kuri nepriklauso nuo fermento aktyvumo dydžio, bet priklauso nuo kraujo ir inhibitoriaus prigimties.

Į dvi žmogaus kraujo bandinių grupes, kurių vienoje įprasta švino koncentracija buvo 0,09  $\mu\text{mol/l}$ , o kitoje – švino koncentracija, įpilant vienodą švino acetato tirpalo kiekį, buvo padidinta iki 0,60  $\mu\text{mol/l}$ , pridėta kalio selenido taip, kad selenido jonų koncentracija kraujyje didėtų nuo 0 iki 3066,01  $\mu\text{mol/l}$ . Nustatant šiuose bandiniuose fermento aktyvumą pastebėta, kad, padidinus švino koncentraciją kraujyje nuo 0,09  $\mu\text{mol/l}$  iki 0,60  $\mu\text{mol/l}$ , aktyvumas sumažėjo 7,41% (nuo 515,35  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  iki 477,16  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ ) (1 pav., 2 kreivė). Įdėti pradiniai maži  $\text{Se}^{2-}$  kiekiai (koncentracija nuo 0 iki 0,31  $\mu\text{mol/l}$ ) nežymiai atstatė  $\delta$ -ALRD aktyvumą nuo 477,16  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  iki 480,98  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  (0,80%). Toliau didinant  $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją kraujyje nuo 0,31  $\mu\text{mol/l}$  iki 30,66  $\mu\text{mol/l}$ , fermento aktyvumas tolygiai mažėjo nuo 480,98  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  iki 459,89  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  (4,38%). Staiga  $\delta$ -ALRD aktyvumas sumažėjo (20,64%) padidinus  $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją iki 306,60  $\mu\text{mol/l}$  (aktyvumas 364,99  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ ). Esant  $\text{Se}^{2-}$  koncentracijai 3066,01  $\mu\text{mol/l}$ , fermentas praktiškai inhibuojamas. Jo aktyvumas buvo tik 55,82  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ , t. y. sumažėjo 84,71%. Apskaičiuota inhibicijos pusės šuolio  $\text{Se}^{2-}$  koncentracija buvo didelė – 1100  $\mu\text{mol/l}$ . Tai rodė mažą apsauginį  $\text{Se}^{2-}$  aktyvumą esant papildomai taršai švino katijonais kraujyje.

Neįdėjus  $\text{Pb}^{2+}$  papildomai į žmogaus kraują, t. y. esant natūraliai jo koncentracijai kraujo bandiniuose 0,07  $\mu\text{mol/l}$ , įdėtas mažas  $\text{Se}^{2-}$  kiekis (koncentracija iki 0,45  $\mu\text{mol/l}$ ) taip pat nežymiai padidino  $\delta$ -ALRD aktyvumą – nuo 641,40  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  iki 683,78  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  (6,60%) (1 pav., 3 kreivė). Toliau didinant  $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją iki 22,59  $\mu\text{mol/l}$ , pastebėtas  $\delta$ -ALRD aktyvumo maksimumas (686,27  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ ). Dar didesnė  $\text{Se}^{2-}$  koncentracija (nuo 22,59  $\mu\text{mol/l}$  iki 225,91  $\mu\text{mol/l}$ ) fermento aktyvumą sumažino nuo 686,27  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  iki 470,21  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  (31,48%). Inhibicijos pusės šuolio  $\text{Se}^{2-}$  koncentracija buvo mažesnė (800  $\mu\text{mol/l}$ ). Tai rodė didesnę  $\text{Se}^{2-}$  apsauginį aktyvumą esant kraujyje nedidelei natūraliai  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijai.

Atliekant tokį pat bandymą su galvijo krauju (1 pav., 1 kreivė), kuriame buvo natūrali nedidelė 0,02  $\mu\text{mol/l}$   $\text{Pb}^{2+}$  koncentracija, nustatyta, kad papildžius jį mažu  $\text{Se}^{2-}$  kiekiu, kaip ir žmogaus kraujyje,  $\delta$ -ALRD aktyvumas padidėjo 11,94% (pradinis aktyvumas 51,75  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  nesant  $\text{Se}^{2-}$  padidėjo iki 57,93  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  pasiekus kraujyje 0,36  $\mu\text{mol/l}$  – 0,48  $\mu\text{mol/l}$   $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją). Didesnė  $\text{Se}^{2-}$  koncentracija – nuo 24,12  $\mu\text{mol/l}$  iki 80,40  $\mu\text{mol/l}$  – nežymiai mažino fermento aktyvumą nuo 54,16  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  iki 52,06  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  (3,88%).  $\delta$ -ALRD aktyvumas staiga ėmė mažėti esant didesnei nei 80,40  $\mu\text{mol/l}$   $\text{Se}^{2-}$  jonų koncentracijai. Esant koncentracijai 402,03  $\mu\text{mol/l}$ , aktyvumas sumažėjo iki 37,05  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  (28,83%). Fermento inhibicija įvyko, kai  $\text{Se}^{2-}$  jonų koncentracija kraujyje buvo 2412,16  $\mu\text{mol/l}$ . Fermento aktyvumas sumažėjo 54,44% ir buvo 23,55  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ . Apskaičiuota inhibicijos pusės šuolio  $\text{Se}^{2-}$  koncentracija ( $I_{1/2} = 300$   $\mu\text{mol/l}$ ) buvo mažesnė negu žmogaus kraujyje ( $I_{1/2} = 800$   $\mu\text{mol/l}$ ).

Matyti, kad  $\text{Se}^{2-}$  įtaka  $\delta$ -ALRD aktyvumui kraujyje natūralios ir dirbtinės  $\text{Pb}^{2+}$  taršos fone *in vitro* įvairi: maža seleno koncentracija (0,2  $\mu\text{mol/l}$  – 0,3  $\mu\text{mol/l}$ ) nežymiai atstato fermento aktyvumą (0,8–6,6%), didesnė (0,3  $\mu\text{mol/l}$  – 30,7  $\mu\text{mol/l}$ ) – tolygiai mažina (4,4–6,6%)  $\delta$ -ALRD aktyvumą, o didelė (306,6  $\mu\text{mol/l}$  – 3066,0  $\mu\text{mol/l}$ ) pasižymi inhibicinėmis savybėmis –  $\delta$ -ALRD aktyvumą sumažina 84,71%.

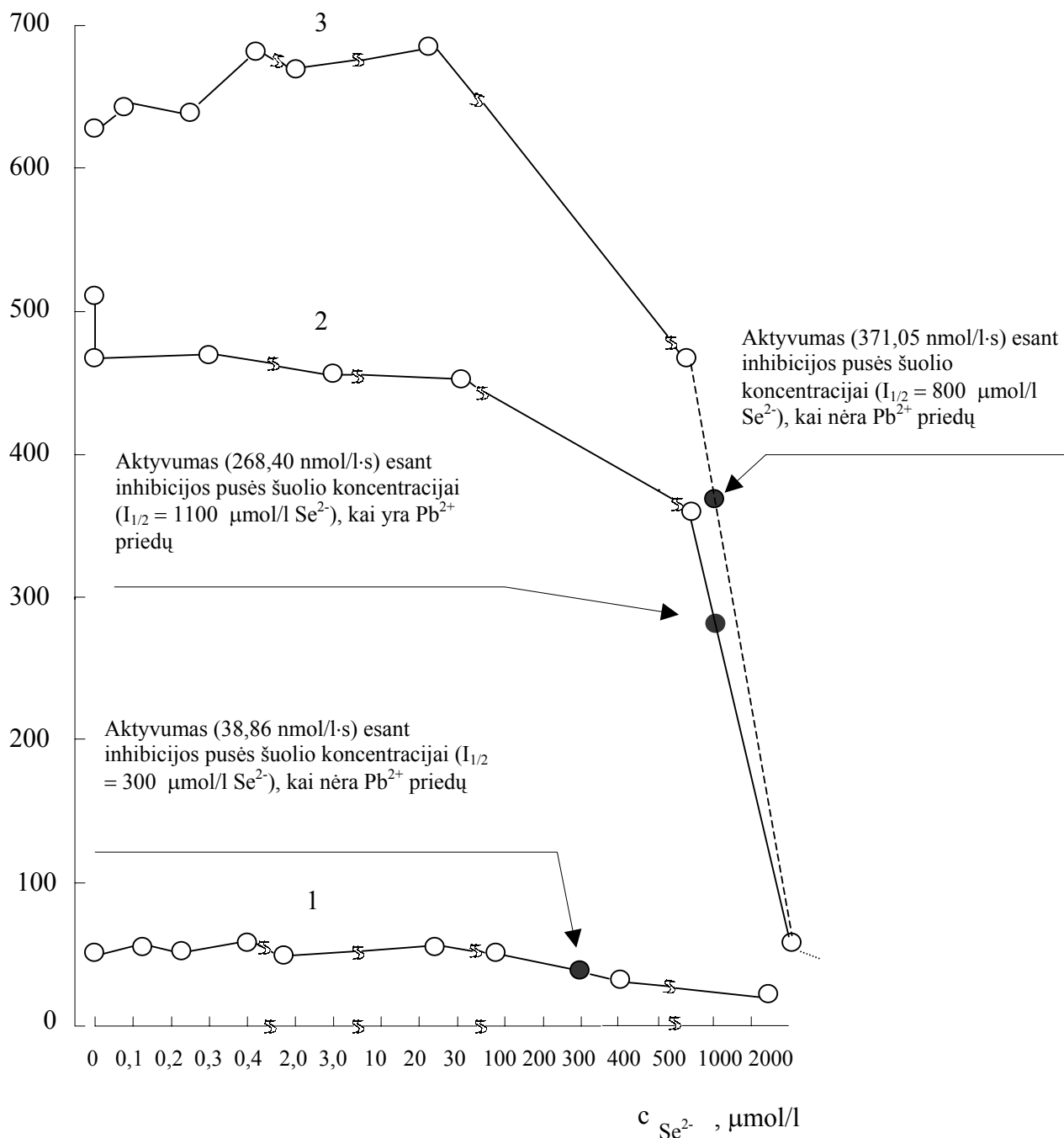
Šie trys bandymai *in vitro* parodė, kad  $\text{Se}^{2-}$  priedu veikiamas ir žmogaus, ir galvijų kraujo  $\delta$ -ALRD aktyvumas kinta analogiškai.

Tiriant  $\delta$ -ALRD aktyvumo kaitą veikiant  $\text{Pb}^{2+}$ , kai kraujyje nėra  $\text{Se}^{2-}$  (2 pav., 2 kreivė), į ką tik paimto galvijo kraujo, kuriame natūrali  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracija buvo 0,28  $\mu\text{mol/l}$ , o fermento aktyvumas 115,12  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ , bandinius didėjančia seka buvo dedamas nedidelis švino acetato kiekis, iki bendra  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracija tapo 80,69  $\mu\text{mol/l}$ . Pradinis nedidelis švino koncentracijos padidėjimas (iki 0,32  $\mu\text{mol/l}$ ) staiga sumažino fermento aktyvumą 8,16% (iki 102,78  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ ). Toliau nuosekliai didinant švino koncentraciją nuo 0,32  $\mu\text{mol/l}$  iki 1,08  $\mu\text{mol/l}$ ,  $\delta$ -ALRD aktyvumas nežymiai kito nuo 102,78  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$  iki 102,93  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ , pereidamas nedidelį maksimumą 105,92  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$ , atsiradusį esant  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijai 0,68  $\mu\text{mol/l}$ . Staigus  $\delta$ -ALRD aktyvumo

mažėjimas (inhibicijos šuolis) prasidėjo esant  $Pb^{2+}$  koncentracijai didesnei už  $1,08 \mu\text{mol/l}$ , ir fermentas tapo praktiškai neaktyvus (aktyvumas sumažėjo 98,2% ir liko tik  $1,76 \text{ nmol/l}\cdot\text{s}$ ), kai  $Pb^{2+}$  koncentracija kraujyje  $80,69$

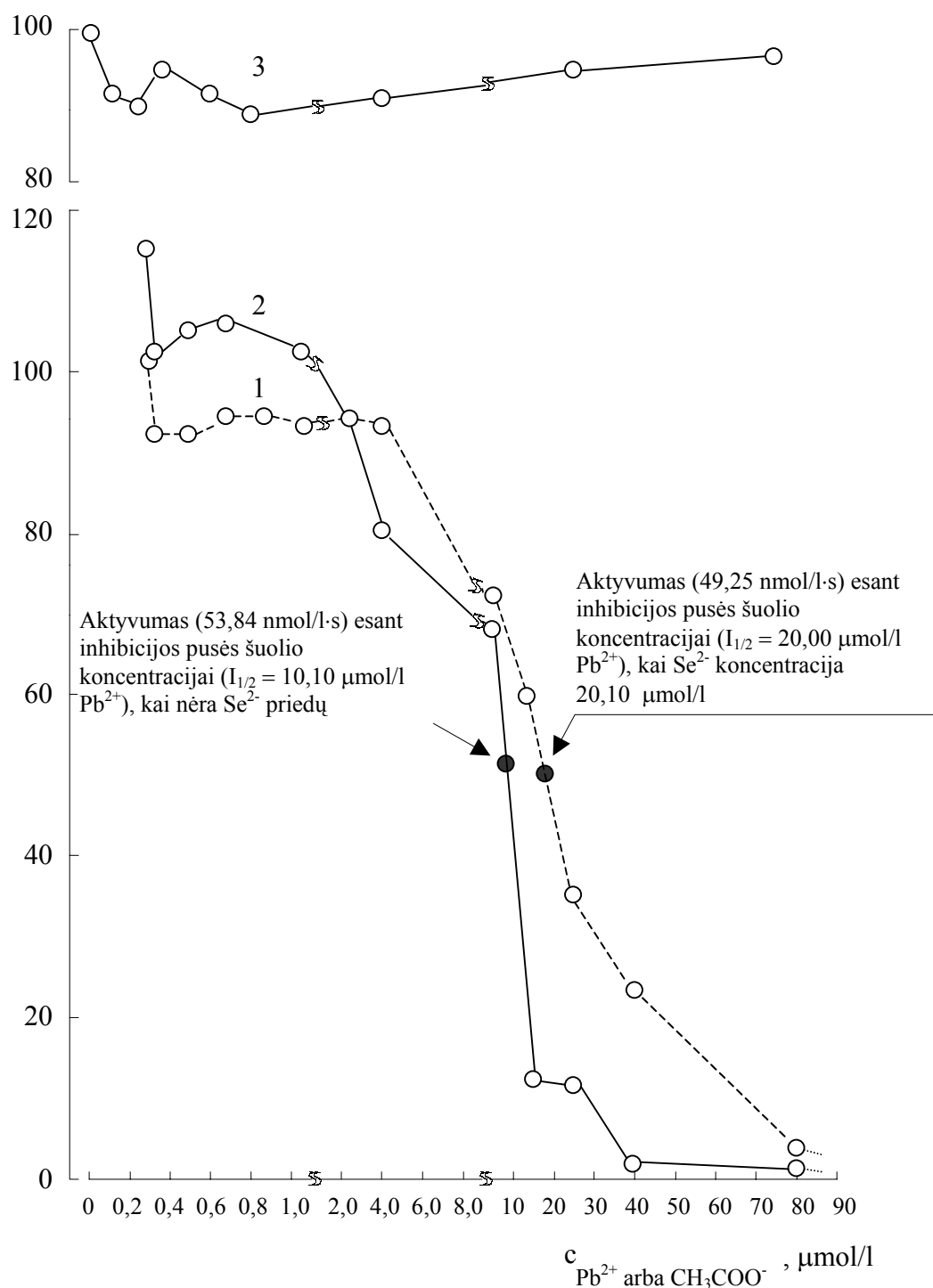
$\mu\text{mol/l}$ . Apskaičiuota inhibicijos pusės šuolio  $Pb^{2+}$  koncentracija yra nedidelė ( $I_{1/2} = 10,10 \mu\text{mol/l}$ ). Tai rodo didelį  $Pb^{2+}$  inhibicinį aktyvumą.

Kraujo  $\delta$ -ALRD  
aktyvumas,  $\text{nmol/l}\cdot\text{s}$



1 pav.  $Se^{2-}$  įtaka  $\delta$ -ALRD aktyvumui kraujyje *in vitro*: 1 – esant natūraliai  $Pb^{2+}$  koncentracijai  $0,02 \mu\text{mol/l}$  galvio kraujyje; 2 – padidinus žmogaus kraujyje  $Pb^{2+}$  koncentraciją iki  $0,60 \mu\text{mol/l}$ ; 3 – esant natūraliai  $Pb^{2+}$  koncentracijai  $0,07 \mu\text{mol/l}$  kitame to paties žmogaus kraujo bandinyje

Kraujo  $\delta$ -ALRD  
aktyvumas, nmol/l·s



2 pav.  $\text{Pb}^{2+}$  priedų įtaka  $\delta$ -ALRD aktyvumui galvijų kraujyje *in vitro*: 1 – pridėjus į kraują  $\text{Se}^{2-}$  iki 20,10  $\mu\text{mol/l}$ ; 2 – nesant  $\text{Se}^{2-}$  priedų to paties galvio kraujyje; 3 –  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  įtaka  $\delta$ -ALRD aktyvumui šuns kraujyje nesant  $\text{Pb}^{2+}$  ir  $\text{Se}^{2-}$  priedų

Tiriant kintantį  $\delta$ -ALRD aktyvumą, veikiamą  $\text{Pb}^{2+}$ , kai kraujyje pastovi  $\text{Se}^{2-}$  koncentracija (2 pav., 1 kreivė), į ką tik paimto to paties galvio kraujo kitus bandinius buvo įdėta kalio selenido ir gauta juose nekintanti 20,10  $\mu\text{mol/l}$

$\text{Se}^{2-}$  koncentracija. Tada į juos didėjančia seka pridėta toks pat, kaip ir ankstesniame bandyme, švino acetato kiekis iki bendros  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijos 80,96  $\mu\text{mol/l}$ .

Gavus kraujyje pastovią  $\text{Se}^{2-}$  koncentraciją 20,10  $\mu\text{mol/l}$ , įvyksta laukiamas pradinis  $\delta$ -ALRD aktyvumo mažėjimas. Pradinis aktyvumas 115,12 nmol/l-s sumažėja iki 101,25 nmol/l-s (12,05%). Mažėjimas išlieka toliau kintant aktyvumui (2 pav. 1 kreivė išsidėsto žemiau negu 2 kreivė). Padidinus pradinę  $\text{Pb}^{2+}$  koncentraciją nuo 0,28  $\mu\text{mol/l}$  iki 0,32  $\mu\text{mol/l}$ , analogiškai ankstesniam atvejui, fermento aktyvumas staiga sumažėja 9% (nuo 101,25 nmol/l-s iki 92,13 nmol/l-s). Toliau, nuosekliai didinant švino koncentraciją nuo 0,32  $\mu\text{mol/l}$  iki 4,30  $\mu\text{mol/l}$ , fermento aktyvumas vėl nežymiai kinta nuo 92,13 nmol/l-s iki 93,06 nmol/l-s taip pat pereidamas nedidelį maksimumą 94,50 nmol/l-s esant  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijai 0,84  $\mu\text{mol/l}$ . Inhibicijos šuolis prasideda esant žymiai didesnei  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijai kraujyje – nuo 4,30  $\mu\text{mol/l}$ . Fermentas beveik visai inaktyvuojamas esant  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijai kraujyje 80,69  $\mu\text{mol/l}$ . Aktyvumas sumažėja 96,05% ir lieka tik 3,68 nmol/l-s. Apskaičiuota inhibicijos pusės šuolio  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracija ( $I_{1/2} = 20,00 \mu\text{mol/l}$ ) buvo beveik du kartus didesnė negu  $I_{1/2}$ , kai  $\text{Se}^{2-}$  priedų kraujyje nebuvo (10,10  $\mu\text{mol/l}$ ). Tai rodo sumažėjusį  $\text{Pb}^{2+}$  jonų inhibicinį aktyvumą, kai kraujyje yra  $\text{Se}^{2-}$ , ir patvirtina, kad Se apsauginės savybės galima įvertinti ne tik *in vivo*, bet ir *in vitro* būdu.

Tirtose priklausomybėse prieš  $\delta$ -ALRD inhibicijos šuolio pradžią nustatomas  $\delta$ -ALRD aktyvumo pradinis mažėjimas (minimumas) gali būti daugiau acetato anijoninės kilmės, nes jis atsiranda tik įdėjus į kraują švino acetato (1 pav. 2 kreivė ir 2 pav. 1,2 kreivės) arba acetato anijono su natrio acetatu (2 pav., 3 kreivė). Minimumas nenustatomas, kai į kraują, kuriame yra tik natūralus švino kiekis, įleidžiami  $\text{Se}^{2-}$  jonai.  $\text{Na}^+$  jonų poveikis  $\delta$ -ALRD aktyvumui netirtas, nes natūrali jų koncentracija kraujyje yra labai didelė palyginti su įleidžiama, dėl to jos įtaka bus nykstamai maža. Tuo tarpu tolesnis nežymus  $\delta$ -ALRD aktyvumo didėjimas (maksimumas), esantis visose priklausomybėse, gali rasti dėl bendrų kraujo savybių, pasireiškiančių *in vitro* sąlygomis, nes jis beveik nepriklauso nuo jonų prigimties. Tuo tarpu  $\delta$ -ALRD inhibicijos šuolis buvo skirtingo pobūdžio ir akivaizdžiai priklausė nuo to, kokie jonai jį sukelia. Tai verčia manyti, kad jonų įtaką kraujo  $\delta$ -ALRD aktyvumui geriau vertinti pagal inhibicijos šuolio padėtį (pusės šuolio koncentraciją  $I_{1/2}$ ) daugiataškėje priklausomybėje, o ne vien tik pagal padidėjusį arba sumažėjusį fermento aktyvumą tam tikroje tos priklausomybės vietoje, kuri gali būti pasiekusi minimumą arba maksimumą, o galbūt ir inhibicijos šuolį. Be to, sunkiųjų metalų įtaka  $\delta$ -ALRD aktyvumui kraujyje visada turi būti siejama su jų ligandinių anijonų ar kitokių cheminių medžiagų poveikiu *in vivo* ir *in vitro*.

#### Išvados.

1.  $\delta$ -ALRD aktyvumas *in vitro* žmonių ir galvijų kraujyje, įleidus  $\text{Se}^{2-}$  jonų, daugiataškėje priklausomybėje kinta analogiškai.

2. Apsauginis  $\text{Se}^{2-}$  jonų poveikis  $\delta$ -ALRD aktyvumui *in vitro*, esant žmogaus kraujyje didesnei  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijai, yra mažesnis, negu jame esant mažai natūraliai  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracijai.

3.  $\text{Se}^{2-}$  jonų įtaka kraujo  $\delta$ -ALRD aktyvumui natūralios ir dirbtinės pastovios  $\text{Pb}^{2+}$  taršos fone *in vitro* turi dvejopą pobūdį: maža  $\text{Se}^{2-}$  koncentracija nežymiai keičia fermento aktyvumą, pasiekiant maksimalią jo vertę, o didelė pasižymi inhibicinėmis savybėmis.

4.  $\text{Pb}^{2+}$  jonų įtaka kraujo  $\delta$ -ALRD aktyvumui, nesant  $\text{Se}^{2-}$  ir esant pastoviai  $\text{Se}^{2-}$  koncentracijai *in vitro*, turi trejopą pobūdį: maža  $\text{Pb}^{2+}$  koncentracija staiga sumažina fermento aktyvumą (pereina minimumą), didesnė nežymiai keičia fermento aktyvumą (pereina maksimumą), o didelė – sukelia  $\delta$ -ALRD inhibiciją.

5.  $\text{Pb}^{2+}$  jonų inhibicinis poveikis kraujo  $\delta$ -ALRD aktyvumui, esant  $\text{Se}^{2-}$  priedui kraujyje *in vitro*, nustatytas pagal inhibicijos šuolio padėtį daugiataškėje priklausomybėje yra žymiai mažesnis, negu kraujyje be  $\text{Se}^{2-}$ .

6. Sunkiųjų metalų įtaka  $\delta$ -ALRD aktyvumui kraujyje turi būti siejama su jų ligandinių anijonų ar kitokių cheminių medžiagų poveikiu *in vivo* ir *in vitro*.

#### Literatūra

1. Navarro-Alarcon M., Lopes-Martinez M. C. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Sci Total Environ*. 2000. N. 249. P. 347.
2. Julio C. M., Skares M. Sc., Vanderlei Folmer M.Sc., Joao B.T. Influence of dietary selenium supplementation and exercise on thiol-containing enzymes in mice. *Toxicology Letters*. 2003. N. 139–1. P. 55–56.
3. Schlemmer G. Analyse von biologischem Material mit der Graphitrohrofen – AAS. In: *Instrumentalized Analytical Chemistry and Computer Technology*. Darmstadt: GIT VERLAG, 1989. P. 561–568.
4. Berlin A., Schaller K. H. European standardised method for the determination of delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in blood. *Z. Klin. Chem. Biochem*. 1974, N. 12. P. 389–390.