

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЕДИНЕНИЙ СУРЬМЫ

Кожомкулов Э.Т., Маатов Т.О., Кожомкулова С.К., Саипбаев Б.С.

Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызстан

Резюме. Экспериментальные исследования животных, подвергнутых сурьмяной интоксикации, свидетельствуют о повышении активности некоторых клеточных ферментов на начальном этапе токсического воздействия сурьмы. В поздние сроки отмечается снижение активности этих ферментов, что вероятно связано с ингибированием индуктивной фазы метаболизма клеток, а также энергетических процессов в клетке. В конечной стадии интоксикации выявлены ультраструктурные нарушения субклеточных структур.

Ключевые слова: сурьмяная интоксикация, клетки, ферменты.

RESEARCH OF INTRACELLULAR ENZYMES ACTIVITY UNDER THE TOXIC EFFECT OF ANTIMONY COMPOUNDS

Resume. Experimental research of animals under antimony intoxication indicates the increase of some cellular enzymes activity during the initial stage of toxic effect. At the late time the decrease of these enzymes activity is observed that is connected probably with the inhibition of inductive phase of cellular metabolism and cell energy processes. During the final stage of intoxication ultrastructural damages of subcellular structures are found.

КЛЕТКАНЫН ИЧИНДЕГИ ФЕРМЕНТТЕРДИН АКТИВТҮҮЛҮГҮНӨ СУРМАНЫН БИРИКТИРМЕЛЕРИНИН ТОКСИКАЛЫК ТААСИРИН ИЗИЛДӨӨ

Кожомкулов Э.Т., Маатов Т.О., Кожомкулова С.К., Саипбаев Б.С.

Актуальность. В последние десятилетия во много раз возросло промышленное производство, в том числе сурьмы, что приводит к значительному загрязнению окружающей среды. Объемы выбросов сурьмы в окружающую среду позволили отнести ее к одним из приоритетных загрязнителей окружающей среды и включить ее наряду с другими тяжелыми металлами в программу ООН по глобальному мониторингу [1].

Довольно интенсивно исследовались иммунные реакции лимфоидных органов при токсическом воздействии различного генеза [2-4]. Однако, практически отсутствуют работы, посвященные изменению лимфоидных клеток при токсическом воздействии соединений сурьмы.

Цель данного экспериментального исследования – провести оценку активности ферментов лимфоидных клеток, а также выявить в них возможные ультраструктурные изменения при токсическом действии соединений сурьмы.

Методы исследования. Исследование влияния различных соединений сурьмы на активность некоторых ключевых ферментов метаболизма лейкоцитов, а также на ультраструктуру клеток проводили на мышах линии СВА. Затравку животных проводили внутрибрюшинным введением растворов трехоксида сурьмы, трехсернистой сурьмы и антимионилтартрата калия (АТК), при этом суточная доза для одного животного была следующей:

- ♦ Трехокись сурьмы – 0,0016 мг/мл или 0,08 мг/кг;
- ♦ Трехсернистая сурьма – 0,0017 мг/мл или 0,085 мг/кг;

♦ Антимионилтартрат калия – 0,5 мг/мл или 25 мг/кг.

Активность ферментов определяли на 3-й, 7-й, 14-й и 21-й дни после начала токсического воздействия. Для контроля исследовали активность этих же ферментов без затравки животных соединениями сурьмы, а также на 3-й, 7-й, 14-й и 21-й дни после внутрибрюшинного введения физраствора.

Результаты исследований. Анализ динамики активности одного из ключевых ферментов цикла Кребса сукцинатдегидрогеназы (СДГ) лейкоцитов указывает на неоднозначные изменения активности этого фермента. В группе мышей, получавших раствор трехоксида сурьмы, наблюдалось постоянное снижение активности СДГ.

У животных, получавших раствор трехсернистой сурьмы, наблюдалось волнообразное изменение активности СДГ, причем, к концу эксперимента отмечалось четко выраженное ингибирование активности фермента. Исследования ультраструктуры клеток указывали на увеличение количества митохондрий и на появление гигантских митохондрий [5]. Это свидетельствовало об энергетической активации клеток. Однако, в более поздних стадиях эксперимента отмечается отек митохондрий с последующим разрушением крист внутренней мембраны митохондрий [5].

В группе животных, затравленных АТК, происходило прогрессирующее снижение активности и к 21-му дню активность снижалась более, чем в 1,5 раза. Эти данные свидетельствуют о токсическом влиянии соединений сурьмы на ферменты, участвующие во внутриклеточных энергетических процессах, в частности, на

СДГ, являющаяся акцептором водорода и донором электронов, поступающих в дыхательную цепь. Снижение активности СДГ и, по-видимому, других дегидрогеназ цикла Кребса, может привести к дефициту поступления высокоэнергетических электронов в дыхательную цепь, что в конечном счете приведет в дальнейшем к снижению синтеза АТФ.

Помимо основного, гликолитического пути катаболизма глюкозы, существует вторичный путь – пентозофосфатный, поставляющий в клетку восстановленный никотинамиддинуклеотидфосфат (НАДФН) и рибозофосфат. НАДФН, являясь одним из переносчиков энергии, участвует в восстановлении двойных связей в молекулах ненасыщенных жирных кислот. Исследования активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), ключевого фермента пентозофосфатного шунта, показали, что во всех трех группах животных при воздействии соединений сурьмы в ранние сроки эксперимента (на 3-й день) происходит активация этого фермента. Однако, к 7-му дню наступает стабилизация активности Г-6-ФДГ в клетках животных, получавших растворы трехоксида и трехсернистой сурьмы, а у животных, затравленных АТК, наоборот происходит ингибирование этого фермента. К концу эксперимента во всех наблюдаемых группах животных отмечалось довольно значительное снижение активности Г-6-ФДГ. Ингибирование фермента в ранние сроки интоксикации у животных, получавших АТК, может быть связано с большей растворимостью данного соединения сурьмы и, соответственно, большей способностью проникать в клетку. Подавление активности Г-6-ФДГ – ключевого фермента, лимитирующего скорость всего процесса, приводит к ингибированию пентозофосфатного шунта и, соответственно, к снижению синтеза молекул НАДФН и рибозофосфатов. Как следствие этих процессов происходит снижение синтеза РНК и внутриклеточных липидов *de novo*. Кроме того, дефицит НАДФН, участвующего в восстановлении глутатиона, может привести к срыву компенсаторных механизмов нейтрализации перекисных форм полиненасыщенных жирных кислот, входящих в состав мембран, что также неблагоприятно сказывается на клеточных и субклеточных структурах.

Анализ активности кислой фосфатазы (КФ) лимфоцитов и нейтрофилов указывает на активацию этого фермента в первые 3-7 дней эксперимента. Затем, к 14-му дню наступает снижение активности, а на 21-й день эксперимента происходит стабилизация активности фермента. Повышение активности КФ, вероятно, связано с усилением работы лизосомального комплекса клетки в первые дни затравки. Нельзя исключить, что повышение активности обусловлено частичной деструкцией лизосом. Наряду с энергетической активацией, выявлены и другие эффекты, свидетельствующие об активации клеток в ранней стадии хронической сурьмяной интоксикации. Например, увеличение в цитоплазме лимфоцитов полисомных комплексов, связанных с процессами катаболизма. Для реализации токсических эффектов на уровне лизосом имеют значение повреждение мембран лизосом и высвобождение кислых гидролаз. Нарушение физиологических функций лизосом приводит к развитию патологического процесса за счет нару-

шения катаболизма белков и других биополимеров и дезорганизации внутриклеточного метаболизма.

В эндоплазматическом ретикулуме выявлено расширение цистерн ГЭР и расширение общей сети эндоплазматического ретикулума [5]. Учитывая, что структурно-метаболический комплекс эндоплазматической сети активно связан с метаболизмом ксенобиотиков, то это свидетельствует об адаптивной реакции в ответ на токсическое воздействие соединений сурьмы. С этим, по-видимому, связано изменение активности микросомальных оксигеназ и ферментов, обеспечивающих процессы конъюгации. В околядерной зоне и вблизи с митохондриями наблюдали увеличение лизосомальных комплексов, что свидетельствовало об активации процессов катаболизма в клетке.

Известно, что тяжелые металлы действуют на плазматическую мембрану клеток и мембраны внутриклеточных структур. В основе мембранотоксического действия ксенобиотиков лежит декомпартментализация ферментных систем с нарушением процессов сопряженного транспорта. Проведенные ультраструктурные исследования позволили выявить так называемую отшнуровку мембран. При длительном токсическом действии нарушения в мембранах приводят к гибели клеток.

Выводы. Таким образом, проведенные гистохимические и ультраструктурные исследования различных иммунных клеток экспериментальных животных, подвергнутых хронической сурьмяной интоксикации, свидетельствуют о повышении активности кислой фосфатазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на начальном этапе токсического воздействия сурьмы. В поздние сроки токсического воздействия снижается активность этих ферментов, что указывает на вероятное ингибирование индуктивной фазы метаболизма клеток. Снижается активность сукцинатдегидрогеназы, одного из ключевых ферментов цикла Кребса, участвующих в обеспечении клетки макроэргами, что свидетельствует о нарушениях биоэнергетических процессов в клетке уже в начальных этапах интоксикации.

Ультраструктурные изменения субклеточных структур, обнаруженные в ранней стадии сурьмяной интоксикации, свидетельствуют об активации лимфоцитов. В более поздних стадиях хронической сурьмяной интоксикации морфологически выявлено снижение активности ультраструктур клеток. В конечной стадии интоксикации выявленные ультраструктурные изменения субклеточных структур указывают на глубокие деструктивные процессы, происходящие в лимфоцитах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брукс Г.В. Химия окружающей среды. Под редакцией Д. Бокрисо. – М., 1992.
2. Шицкова А.П. и соавт., 1983.
3. Бонашевская Т.И., 1986.
4. Шубик В.М. Проблемы экологической иммунологии. – Л., Медицина, 1976.
5. Шаршенова А.А., К.С. Омурзакова и др. Актуальные аспекты экологического мониторинга ртутно-сурьмяного биогеохимического региона. Бишкек, 2000, 226 с.