

КЛЮЧЕВЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ И АДАПТАЦИИ В ОРГАНИЗМЕ ПРИ МНОГОФАКТОРНОМ ВЛИЯНИИ ЭКОТОКСИКАНТОВ.

Ф.Н.ГИЛЬМИЯРОВА, В.М.РАДОМСКАЯ, А.В.БАБИЧЕВ, И.Г.КРЕТОВА,
Л.М.ВИНОГРАДОВА, В.Ю.ГОЛЕНИЩЕВ, М.Л.БЛОК, И.Е.ШАФРАНСКАЯ

Самарская медицинская академия

Токсиканты, появляющиеся при технологических процессах на химических производствах, вызывают заметные изменения в различных уровнях функционирования систем защитных механизмов у работающих на этих предприятиях. При этом увеличивается содержание олипептидов средней молекулярной массы. Также происходит изменение ионно-молекулярного состава крови. Достаточно высокая антиоксидантная защита с участием каталазы. Ускоренная замена компонентов мембран служит проявлением адаптации организма к условиям химического стресса.

Ключевые слова: экотоксиканты, кровь, мембраны, ферменты, олигопептиды средней молекулярной массы.

Введение. Организм человека является объектом многообразного воздействия экотоксикантов, которые алиментарным путем, с вдыхаемым воздухом, через кожу и слизистые покровы в нативном виде и трансформированные за счет токсификации в более агрессивные производные воздействуют на системы жизнеобеспечения организма [1, 2]. Следствием вызываемых нарушений является ухудшение состояния здоровья популяции в целом, изменение структуры заболеваемости, роста врожденных аномалий, аллергозов, тенденции к хронизации патологических процессов [3, 4]. В связи с генерализованным действием токсикантов на организм представляет интерес изучение тех систем и механизмов, которые образуют многоуровневую внутреннюю защиту. Эту функцию выполняют мембранные образования [5, 6], альбумин плазмы крови [7], антиоксидантные системы [8].

Методика. Было обследовано 114 человека из Новокуйбышевска — города с развитой химической и нефтехимической промышленностью. Для обеспечения комплексной оценки обследуемых жителей были разработаны адаптированные карты врачебного скрининга, позволяющие в каждом конкретном случае располагать информацией о возможном характере профессиональной вредности, неблагоприятном наследственном фоне, формах хронической патологии и другими анамнестическими сведениями.

Обследованные жители были разделены на две группы. В первую вошли работающие на предприятии химического профиля: 34 человека в возрасте от 19 до 60 лет (средний возраст $35,0 \pm 2,7$ лет). Мужчин было 17 (средний возраст $32,3 \pm 2,5$ лет), женщин 17 (средний возраст $38,7 \pm 2,9$ лет). Вторую составили люди, работа которых не связана с профвредностями: 80 человек, их возраст равен в среднем $36,2 \pm 7,2$ лет, мужчин было 31 ($34,8 \pm 6,9$ лет), средний возраст женщин $37,1 \pm 6,2$ лет. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) определялась в лизате эритроцитарной массы спектрофотометрически [9], электрический пробой мембран эритроцитов оценивался методом Ю.А.Владимирова с соавт. [8]; измерение содержания олигопептидов средней молекулярной массы в плазме крови и слюне проводилось по методу В.В.Николайчика с соавт. [10].

Выделение гепатоцитов проводили по методу И.П.Канаевой с соавт., инкубация в течение 20 минут фосфатным буфером (рН 7,4), приготовленном на бидистиллированной воде и на питьевой воде г.Новокуйбышевска и г.Когалыма. Для определения электрического пробоя мембран эритроцитов исследования проводили на растворе сахарозы, приготовленной на воде из тех же источников. активность малатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы определяли спектрофотометрически [11, 12], общую оксидантную активность определяли по методу Okamura et al. [13].

Для постановки экспериментов *in vitro* к 0,5 мл гемолизата добавляли 0,01 мл раствора реагента (хлорида кальция CaCl_2 , сульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и сульфата железа $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ в конечной концентрации 10^{-6} М. Инкубация 2 мин. при температуре 37°C . Исследование активности ферментов проводили в гемолизате до введения реагентов и через 2 минуты инкубации (максимальное изменение активности).

Результаты и обсуждение. При анализе результатов исследования плазмы крови и эритроцитов у лиц обоего пола, работающих на химическом производстве и не работа-

ющих на нем, но проживающих в экологически неблагополучном регионе, обращает внимание резкое увеличение содержания олигопептидов средней молекулярной массы и у мужчин, и у женщин, занятых на вредном производстве (таблица 1). Эти изменения являются показателем токсемии, следствием повреждающего действия экотоксикантов и в настоящее время рассматриваются как универсальные признаки интоксикации [14]. Как известно, олигопептиды средней молекулярной массы являются суммарным показателем. Нарастание их концентрации отражает участие мощной линии белковой защиты в экранировании организма от ксенобиотиков [7], поскольку в состав пептидов средней и высокой молекулярной массы входят специфические низкомолекулярные белки, выполняющие функцию защиты от химического стресса [6], а также биологически активные пептиды.

Таблица 1

Активность каталазы, величина электрического пробоя, содержание олигопептидов средней молекулярной массы в крови людей, работающих на предприятиях различного профиля

Группы обследованных	Активность каталазы (ΔЕ/мин·мг)	Электрический пробой эритроцитов (mV)	Содержание олигопептидов средней молекулярной массы (г/л)
Мужчины не работающие на химическом предприятии (n=31)	9,81±0,8	55,59±6,2	0,58±0,007
работающие на химическом предприятии (n=17)	8,56±0,5*	36,61±4,1**	1,48±0,24**
Женщины не работающие на химическом предприятии (n=49)	8,15±0,92	46,41±5,3	0,59±0,007
работающие на химическом предприятии (n=17)	8,56±0,89	43,8±4,7	1,24±0,21**

* — $p < 0,01$

** — $p < 0,001$

С помощью кондуктометрии плазмы установлен рост удельной электропроводности на 50,4% ($p < 0,001$) у обследованных, проживающих в экологически неблагополучном регионе, что характеризует повышение концентрационных характеристик биосреды, осмотического давления крови. Этот факт служит материалом для обсуждения сложившихся в условиях химической агрессии особенностей обмена между жидкой внутренней средой организма и тканями, выяснения роли в этом процессе компонентов, которые меняют ионно-молекулярный состав крови, ее гомеостатические характеристики.

Известно, что мембранные структуры служат мишенью при действии различных факторов повреждения, обуславливая глубокие нарушения обмена и функции соответствующих органов, систем [15, 16]. Изучение состояния мембран эритроцитов по такому интегральному тесту как электрический пробой эритроцитов выявило достоверную разницу этого показателя в зависимости от пола обследованных. Характерно, что работа в условиях вредного производства ведет к существенному снижению электрического пробоя эритроцитов у мужского контингента. Параллельно определение активности фосфолипазы А₂ эритроцитарных мембран показало, что активность фермента у них на 35% ($p < 0,001$) выше, чем у неработающих. Таким образом, данные результаты могут косвенно свидетельствовать о наличии метаболических предпосылок для ускоренного обновления фосфолипидного компонента мембран и усиленного образования непредельных жирных кислот, исходного материала для биосинтеза простагландинов и других высокоактивных соединений.

Анализ активности каталазы эритроцитов показал, что у работающих на производстве, проживающих в экологически неблагополучном регионе антирадикальная защита с участием каталазы находится на достаточно высоком уровне, обеспечивая жизне-

способность тканей, защищая мембраны, белки, нуклеиновые кислоты от мутагенного прооксидантного действия гидроксильного радикала [8, 17].

Анализ возможных причин, вызывающих нарушение в обмене веществ работающих на вредном производстве и проживающих в зоне повышенного техногенного загрязнения позволил установить роль особенностей состава питьевой воды в г.Новокуйбышевске как этиологического средового фактора в выявленных нарушениях (табл. 2). Характерно, что в данной воде содержание хлора превышает норму в 10 раз. В ней содержатся нитраты (1,3-6,7 мг/дм³), нитриты (0,02 мг/дм³), сульфаты (314,5-334,5 мг/дм³). Определение электропроводности показало, что она составляет 1,28 mS, что свидетельствует о насыщенности ионами данного растворителя. Инкубация интактных гепатоцитов в фосфатном буфере pH 7,4, приготовленном на этой питьевой воде, выявила резкое угнетение лактатдегидрогеназы и малатдегидрогеназы, снижение общей оксидазной активности.

Таблица 2

Активность ферментов в гепатоцитах крыс при инкубации с водой из разных источников в условиях *in vitro*

Активность ферментов	Дистиллированная вода	Вода из г.Новокуйбышевска	Вода из г. Когалыма
Лактатдегидрогеназа n=12 (мкмоль*НАДН/мин*мг)	1,694±0,09	0,691±0,16**	2,43±0,34**
Малатдегидрогеназа n=12 (мкмоль*НАДН/мин*мг)	1,09±0,11	0,573±0,007**	1,33±0,12**
Общая оксидазная активность n=12 (Е)	0,97±0,08	0,78±0,08**	1,25±0,1**

** - $p < 0,001$

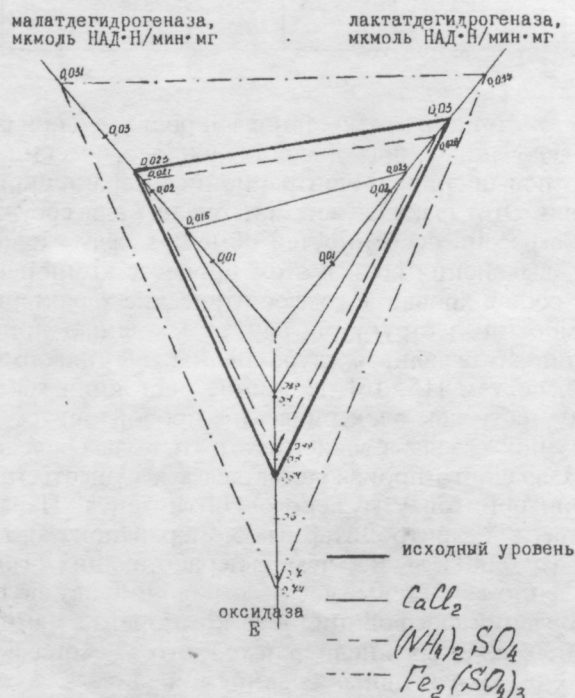


Рис. Изменение активности лактат-, малатдегидрогеназ, оксидазы эритроцитов жителей г.Новокуйбышевска под влиянием различных катионов и анионов.

Следовательно, компоненты, растворенные в воде, оказывают прямое угнетающее действие на процессы аэробного и анаэробного окисления. Такие нарушения в функ-

ции дегидрогеназ, определяющих распад унифицированных метаболитов, транспорт восстановленных эквивалентов в дыхательную цепь, служат предпосылкой энергетического дефицита с характерными последствиями для данной ткани, вплоть до ее деструкции. Общее снижение уровня окислительных процессов в гепатоцитах отражает и уменьшение оксидазной активности. О значимости сдвигов, вызываемых питьевой водой, свидетельствует снижение величины электрического пробоя эритроцитарных мембран, обнаруженных нами при воздействии среды, содержащей питьевую воду из г. Новокуйбышевска, на эритроцитарную массу.

Дальнейшее изучение причин, обнаруженных метаболических нарушений привело к необходимости постановки серии опытов *in vitro* с отдельными компонентами воды — анионами и катионами, содержащимися в ней в избытке (см. рисунок). Было установлено, что хлорид-анион и сульфат-анион вызывают ингибирующее влияние на активность лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, оксидазы эритроцитов. Установленная тенденция аналогична изменению активности изолированной малатдегидрогеназы под воздействием хлорид- и сульфат-анионов, выявленному в нашей лаборатории ранее [18] и раскрывает механизм происходящих изменений.

Таким образом, в каскаде нарушений обмена, происходящих у жителей неблагополучного региона, важную этиологическую роль играет специфический состав питьевой воды.

Значимые отличия в картине изученных показателей у работающих на вредном производстве по сравнению с теми, кто не находится под воздействием антропогенных экологических неблагоприятных факторов — свидетельство выраженного влияния токсикантов на организм. Признаком повреждения служит нарастающая токсемия, увеличение пептидов средней молекулярной массы, снижение величины электрического пробоя эритроцитов, отражающего изменения в структурно-функциональной организации мембранных структур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Телитченко М.М., Остроумов С.А. // Введение в проблемы биохимической экологии — М.: Наука, 1990. — 285 с.
2. Яблоков Л.В., Остроумов Г.А. Охрана живой природы: Проблемы и перспективы — М.: Лесная промышленность. — 1993. — 269 с.
3. Воробьев А.И., Васкотрубов Л.П. // Гигиена и санитария. — 1987. — N 5. — С. 83-85.
4. Лопухин Ю.М., Коган Э.М., Караганов Я.Л. Ультразвуковые основы жизнедеятельности печени, почек, сердца. — М.: 1977.
5. Болдырев А.А. // Введение в биомембранологию — М.: Издательство Московского университета, 1990. — 207 с.
6. Маркин В.С., Козлов М.М. // Биомембраны. — 1986. — Т. 3. — N 5. — С. 519-535.
7. Троцкий Г.В. // Украинский биохимический журнал. — 1989. — N 5. — С. 3-15.
8. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. // Итоги науки и техники. Биофизика. — 1991. — Т. 29. — 252 с.
9. Holmes K.S., Masters C.I. // FEBS Letters. — 1970. — V. 11. — P. 45-48.
10. Николайчук В.В., Моин В.М., Курковский В.В. и др. // Лабораторное дело. — 1991. — N 10. — С. 13-18.
11. Kornberg A. // In: Methods in Enzymol. — 1955. — V. 1. — P. 444-445.
12. Ochoa S. // In: Methods in Enzymology. — 1955. — V. 1. — N. IV. — P. 735-739.
13. Okamura N., Takano T., Ishibashi S. et al. // Chem. Pharm. Bull. — 1976. — V. 24. — P. 2175-2180.
14. Николаев В.Г. Метод гемопарбоперфузии в эксперименте и клинике. — Киев, 1984.
15. Владимиров Ю.А., Коган Э.М. // Кардиология. — 1981. — Т. 21. — N 1. — С. 82-85.
16. Вадимов Ю.М. // Труды 2-го Моск. мед. ин-та. — 1987. — Т. 72. — Вып. 1. — С. 129.
17. Говорова Н.Ф., Шаронов Б.П., Яновский С.Н., Лызова С.Н. // Доклады АН СССР. — 1986. — Т. 290. — N 2. — С. 480-483.
18. Самыкина Л.Н. Автореферат дис. канд. мед. наук — Уфа, 1992. — 21 с.

KEY MECHANISMS OF DAMAGE AND ADAPTATION IN PRGANISM AT MULTIFACTOR INFLUENCE OF ECOTOXICANTS.

F.N. Gilmiyaraa, V.M. Radomskaya, A.V. Babistev, Y.G. Kretova, L.M. Vinogradova, V.Yu. Golenishev, M.L. Blok, Y.E. Chafransky

Samara Medical Academy

Toxicants, that are present in chemical productions, influence functioning of protective mechanisms of the workers. The examined people have an increased content of the average molecular mass oligopeptides, changed ionic molecular composition of blood. Antiooxidant protection with catalase participation is high. The accelerated replacement of membrane components displays an adaptation of organism to the chemical stress conditions.

Key words: ecotoxics, blood, membranes, enzymes, average molecular mass oligopeptides.