

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК: 643.31:616.36-099

© Коллектив авторов

### ОСОБЕННОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ВОДНОЙ СРЕДЫ НА СТРУКТУРНО- ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ГЕПАТОЦИТОВ

*Х.Я. Каримов, Ф.Х. Иноятова, Ф.Ш. Иноятов*

Ташкентский Государственный Второй медицинский институт, Узбекистан

Длительная внутрижелудочная интоксикация малыми дозами фтора, цинка, хрома, мышьяка и комбинацией этих соединений крыс различного пола приводит к развитию цитолиза и печеночно-клеточной недостаточности. Эти изменения более выражены у самок особенно при применении хрома, арсенита и комбинации токсикантов. Они приводят к развитию гиперлипидпероксидации у самок, наиболее выраженной при интоксикации мышьяком и комбинированном воздействии. В отличие от самцов у самок интенсификация ПОЛ была более выражена и отмечалась при воздействии всех препаратов. У самцов выявлена активация СОД при воздействии хрома и особенно цинка, у самок - при воздействии фтора и цинка. Отчетливое ингибирование активности СОД выявлено при применении арсенита натрия и комбинации токсикантов. Выявлена активация каталазы (особенно у самцов). Активация мембранодеструктивных процессов в печени экспериментальных животных приводит к снижению фармако-метаболизирующей функции органа. Причем хром и арсенит более выражено удлиняли продолжительность гексеналового сна у самок.

**Ключевые слова:** Загрязнения водной среды, соли металлов, печень, биотрансформация, ПОЛ, АОЗ.

Загрязнение окружающей среды приобрело катастрофические масштабы. В результате бесконтрольного выброса промышленных отходов концентрация их в атмосфере, воде и почве резко возрастает. В зависимости от геохимических условий производства пища человека (растительного и животного происхождения) и вода загрязняются токсикантами [1-3].

Не является исключением и Узбекистан. В водном бассейне Республики содержатся высокие концентрации фтора, цинка, хрома, мышьяка, аммонийного и нитритного азота и др. [4]. В связи с этим в Республике Узбекистан разработан комплексный "Национальный план действия по гигиене окружающей среды Республики Узбекистан", согласно которому проводятся мероприятия по охране окружающей среды [5].

Токсичность соединений обусловлена их химической природой, количеством и составом, способом потребления, а также возрастом и стадией развития организма, его индивидуальными особенностями [1,6,7]. При пероральном поступлении токсиканты через порталную систему попадают в печень, где, метаболизируясь, вызывают отравление. Многочисленные исследования [1,8,9]

токсического действия загрязнителей окружающей среды в основном проведены на высоких концентрациях загрязнителей. Имеются лишь единичные данные о токсическом действии соединений фтора, цинка, хрома и мышьяка при длительном их поступлении; не изучено их комплексное действие на организм, а также особенности их влияния на мужской и женский организм.

Цель исследования - выяснить влияние пола животных на изменение структурно-функциональных параметров гепатоцитов крыс при длительном воздействии малых доз солей фтора, цинка, хрома, мышьяка и их комбинации.

**МЕТОДИКА.** Эксперименты проведены на 112 беспородных половозрелых белых крысах обоего пола исходной массой тела 120-140 г, содержащихся на обычном лабораторном рационе. Животные были разделены на группы по 8-9 крыс в каждой. В течение 3-х месяцев ежедневно перорально внутрижелудочно (зондом) животным вводили (0,5 мл на 100 г массы) соли  $\text{NaF}$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{CrO}_3$  и  $\text{Na}_3\text{AsO}_2$  в концентрации 10, 1,33, 0,5, и 0,1 мг/кг соответственно и их комбинации, которые растворяли в дистиллированной воде. Выбор соединений и доз был обусловлен высокой частотой их встречаемости в различных водоемах Узбекистана. Контрольным животным вводили эквивалентный объем воды. Через 24 часа после заключительного введения токсикантов определяли состояние фармако-метаболизирующей функции печени по гексеналовому тесту (гексенал п/к в дозе 70 мг/кг). Через 24 часа после сна животных декапитировали, собранную кровь, помещали в термостат на 10 мин. при температуре  $37^\circ\text{C}$ , затем центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. и выделяли сыворотку. Быстро извлекали печень, гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе тefлоновым пестиком в среде, состоящей из 0,25 М сахарозы, 0,001 М ЭДТА, 0,05 М трис-НС1 буфере, pH 7,2, выделяли постмитохондриальную фракцию дифференциальным центрифугированием при 9000 об/мин. в течение 20 мин. на рефрижераторной центрифуге PC-6. В этой фракции определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [10], активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД) [11], каталазы [12]. В сыворотке крови экспериментальных животных определяли активность ферментов АлАТ и АсАТ, а также содержание общего белка на автоматическом биохимическом анализаторе "Autohumolyzer" (Германия). Результаты эксперимента обрабатывали с использованием  $t$ -критерия Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Исследования показали (табл.1) развитие умеренной гиперферментемии и гипопротеинемии при длительном воздействии ксенобиотиков. Причем наименьшие изменения были характерны для соединения цинка, наибольшие - для солей хрома, мышьяка и смеси токсикантов. Следует отметить, что самки были более чувствительны к действию токсикантов. У всех экспериментальных животных повышение АлАТ было более выраженным, чем АсАТ, что свидетельствовало о развитии цитолитического синдрома. Наряду с этим, видимо, наблюдалось и развитие печеночно-клеточной недостаточности (особенно при применении арсенита натрия и смеси токсикантов), так как наблюдалась тенденция к снижению количества белка в сыворотке крови.

Токсическое действие исследуемых элементов проявляется в организме, благодаря их влиянию на проницаемость мембран, способностям замещать естественные субстраты в жизнедеятельности клеток, переводить существующие метаболиты в неактивное состояние и ингибировать активность ферментов [1,7,13]. Однако имеются и отличительные особенности их действия. Так, цинк и хром относятся к эссенциальным микроэлементам, тогда как фтор и мышьяк - к условно эссенциальным микроэлементам. Согласно данным литературы [1], микроэлементы делятся на эссенциальные (жизненно необходимые), условно эссенциальные (действие которых до конца не установлено) и ятрогенные (токсическое действие установлено). Из 92 встречающихся в природе элементов 81 обнаружен в организме человека. Из них эссенциальными считаются: железо, медь, цинк, марганец, хром, селен, молибден, йод, кобальт; условно эссенциальными - мышьяк, бор, бром, фтор, литий, никель, кремний, ванадий; ятрогенными - алюминий, кадмий, свинец, ртуть, бериллий, барий, висмут, таллий и другие.

## ТОКСИКАНТЫ И ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

Таблица 1 Активность ферментов и содержание белка в сыворотке крови экспериментальных животных ( $\bar{X} \pm m$ )

Экспериментальные группы	АлАТ ммоль/г.л	АсАТ ммоль/г.л	Белок г%
Интakтная	<u>0,24±0,03</u> 0,28±0,02	<u>0,74±0,08</u> 0,35±0,03	<u>7,10±0,07</u> 7,40±0,06
Опытная:	0,39±0,03*	0,96±0,07	6,54±0,14
NaF	0,48±0,03*	0,49±0,04	6,21±0,09
ZnSO <sub>4</sub>	<u>0,34±0,02</u> 0,39±0,03	<u>0,79±0,05</u> 0,38±0,02	<u>6,94±0,12</u> 7,01±0,13
K <sub>2</sub> CrO <sub>3</sub>	0,44±0,09*	0,97±0,06	6,51±0,21
Na <sub>3</sub> AsO <sub>2</sub>	0,57±0,04*	0,54±0,03*	6,37±0,24
	<u>0,53±0,04*</u>	<u>0,97±0,06*</u>	<u>6,03±0,13</u>
	0,68±0,04*	0,54±0,03*	6,12±0,22
Комбинация токсикантов	<u>0,51±0,04*</u> 0,70±0,05*	<u>1,19±0,08*</u> 0,67±0,05*	<u>6,09±0,18</u> 6,05±0,23

Примечание: Здесь и в других таблицах в числителе представлены значения, полученные в опытах на самцах, в знаменателе - на самках; звездочкой показаны статистически достоверные различия между показателями опытной и интактной групп ( $P < 0,05$ ).

Один из механизмов развития цитолитического синдрома при воздействии токсикантов - активизация перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биомембранах [6,14-16]. Исследование одного из продуктов ПОЛ - МДА в постмитохондриальной фракции печени экспериментальных животных (табл.2) показало повышение его уровня на 95,1, 77,9 и 126,6% соответственно группам с воздействием солей фтора, мышьяка и комбинации токсикантов у самцов. Соли цинка и хрома не оказывали особого влияния на уровень гиперлипидпероксидации у самцов. В отличие от самцов гиперлипидпероксидация у самок была более выражена - превышала норму на 199, 101,6, 101,3, 177,7 и 272,9 % соответственно при воздействии солей фтора, цинка, хрома, мышьяка и их комбинированном воздействии.

Таблица 2. Содержание МДА и активность ферментов СОД и каталазы в постмитохондриальной фракции печени экспериментальных животных ( $\bar{X} \pm m$ )

Экспериментальные группы	Содержание МДА нмоль/мг белка	Активность ферментов	
		СОД усл.ед/мин.мг белка	Каталаза мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин.мг белка
Интakтная	<u>0,429±0,023</u> 0,314±0,018	<u>1,829±0,067</u> 2,013±0,01	<u>0,157±0,017</u> 0,163±0,014
Опытная:	0,837±0,055*	1,730±0,055	0,246±0,013*
NaF	0,939±0,049*	2,513±0,104	0,230±0,010*
ZnSO <sub>4</sub>	<u>0,431±0,027</u> 0,633±0,035*	<u>5,044±0,171*</u> 3,396±0,142*	<u>0,240±0,011*</u> 0,158±0,010
K <sub>2</sub> CrO <sub>3</sub>	<u>0,515±0,037</u> 0,633±0,041*	<u>2,333±0,061*</u> 2,126±0,058	<u>0,322±0,023*</u> 0,176±0,012
Na <sub>3</sub> AsO <sub>2</sub>	<u>0,763±0,038*</u> 0,872±0,047*	<u>1,515±0,054</u> 1,416±0,051*	<u>0,298±0,025*</u> 0,181±0,011
Комбинация токсикантов	<u>0,972±0,050*</u> 1,171±0,048*	<u>1,068±0,049*</u> 1,581±0,058	<u>0,252±0,018*</u> 0,218±0,012*

Такие различия в интенсивности ПОЛ в постмитохондриальной фракции печени экспериментальных животных при длительном поступлении токсикантов в основном связаны с различным механизмом их действия. Микроэлементы играют



важную роль в процессах свободнорадикального окисления липидов [1]. Некоторые из них (цинк, селен) в оптимальных концентрациях стабилизируют мембраны, стимулируя активность глутатионпероксидазы (ГПО) и цинк-медь-зависимой СОД. Отмечено [17], что стабилизирующее действие ионов цинка связано с его взаимодействием с липопротеиновыми компонентами мембран. Он как бы уплотняет их структуру и снижает скорость и глубину ПОЛ. Установлена роль хрома в липидном обмене и в возникновении атеросклероза [1]. Однако эти положительные эффекты соединений цинка и хрома мы наблюдали только у самцов, тогда как у самок увеличивался уровень МДА, хотя и в меньшей степени, чем при воздействии других токсикантов. Возможно, это связано с различиями в половой дифференцировке печени.

Процессы ПОЛ находятся под контролем системы антиоксидантной защиты (АОЗ), важная роль в которой принадлежит ферментам СОД, ГПО и каталазе. Исследование активности ферментов СОД и каталазы в постмитохондриальной фракции печени животных (табл.2) показало статистически значимое повышение активности СОД при применении цинка (особенно у самцов). После воздействия хрома СОД активизировалась только у самцов, а после фтора - у самок. Арсенит натрия и особенно комбинация этих соединений отчетливо снижали активность фермента. Активность же каталазы возрастала (наиболее отчетливо - у самцов).

Следовательно, длительное воздействие токсикантов разнонаправленно действовало на активность антиоксидантных ферментов. Несмотря на активацию СОД у самок под воздействием фтора и цинка, видимо, полного обезвреживания свободных радикалов не произошло, что и определило усиленное образование МДА в постмитохондриальной фракции печени крыс.

Активизация мембранодеструктивных процессов, естественно, определяет ослабление специфических функций печени, одна из которых - участие в процессах биотрансформации ксенобиотиков [5,16,18]. Важную роль в этом процессе выполняет цитохром Р450-зависимая монооксигеназная система. Ее активность тесно связана с фосфолипидным микроокружением [16,18]. Даже незначительные сдвиги в фосфолипидном составе мембран эндоплазматического ретикулума (особенно уменьшение содержания фосфатидилхолина) замедляют процессы биотрансформации ксенобиотиков.

Исследование продолжительности гексеналового сна у крыс, подвергшихся воздействию токсикантов (табл.3), показало его удлинение во всех группах.

Таблица 3. Влияние токсикантов на продолжительность гексеналового сна

Экспериментальные группы	Продолжительность гексеналового сна, мин	
	Самцы	Самки
Интактная	43,2±3,7	46,7±5,1
Опытная: NaF	104,5±8,4*	117,5±10,5*
ZnSO <sub>4</sub>	147,4±10,1*	146,7±11,8*
K <sub>2</sub> CrO <sub>3</sub>	123,5±10,8*	153,2±11,3*
Na <sub>3</sub> AsO <sub>2</sub>	133,7±9,6*	171,7±12,1*
Комбинация токсикантов	158,4±12,3*	172,6±10,9*

Замедление процессов биотрансформации в печени экспериментальных животных под воздействием токсикантов может снижать детоксикацию эндо- и экзогенных соединений, способствовать накоплению их в организме, изменению гомеостаза и развитию эндотоксемии. Нарушение биodeградации эндогенных соединений (в частности, гормонов) может нарушить гормональную регуляцию гомеостаза, определяя преобладание катаболических процессов.

Таким образом, в настоящем исследовании установлено:

1. Длительная внутрижелудочная интоксикация малыми дозами фтора, цинка, хрома, мышьяка и комбинации этих соединений вызывает цитолиз и печеночно-клеточную недостаточность. Эти изменения более выражены у самок особенно при применении хрома, арсенита и комбинации токсикантов.

2. Фтор, арсенит и комбинация токсикантов приводят к гиперлипидперекисидации у самцов, которая наиболее выражена при интоксикации мышьяком и комбинированном воздействии. У самок интенсификация ПОЛ более выражена и отмечалась при воздействии всех препаратов.

3. У самцов выявлена активация СОД при воздействии хрома и особенно цинка, у самок - при воздействии фтора и цинка. Отчетливое ингибирование активности СОД выявлено при применении арсенита и комбинации токсикантов. Выявлена активация каталазы (особенно у самцов).

4. Активизация мембранодеструктивных процессов в печени экспериментальных животных снижает фармако-метаболизирующую функцию органа. Причем хром и арсенит более выражено удлиняли продолжительность гексеналового сна у самок.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. (1991) Микроэлементозы человека. - М.: Медицина.
2. Мудрый И.В. (1999) Гигиена и санитария. №1.15-21.
3. Торшин С.П., Удельнова Т.М., Ягодин Б.А. (1990) Успехи современной биологии. - М., 109, № 2. 86-92.
4. "Экологическое районирование территории Республики Узбекистан". (1998) Ташкент.
5. "Национальный план действий по гигиене окружающей среды Республики Узбекистан". - (1999) Ташкент.
6. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. (1986) В кн: Общие механизмы токсического действия. Москва.
7. Кудрин А.В. (1998) Межд. мед. журн. №11-12. 1000-1006.
8. Паранько Н.М., Рублевская Н.И. (1999) Гигиена и санитария. №2. 51-53.
9. David Zakim, V.D., Thomas D. Boyer, V.D. (1996) Hepatology. A Textbook of Liver Disease. II. pp. 1018-1050.
10. Андреева Л. И., Кожемякин Л.А., Кушкин А.А. (1989). Лабор. дело. №1. 41-43.
11. Мхитарян В.Г., Бадалян Г.Е. (1978) Журн. exper. и клин. медицины. №6. 7-11.
12. Коралюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. (1988) Лабор. дело. №1. 16-19.
13. Тиунов Л.А. (1991) Вестн. АМН СССР. №1.8-12.
14. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. (1990) Успехи биологической химии. 31, 180-208.
15. Скулачев В.П. (1999) Росс. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. №1, 12-18.
16. Тиунов Л.А. (1995) Вестн. РАМН. №3, 9-13.
17. Ильинов А.Н., Рязанов И.А., Осипов А.Н. (1997) Токсикологический вестни, № 4, 10-14.
18. Каримов Х.Я., Карабанович А.К., Хакимов З.З. (1994) Патологические аспекты монооксигеназной системы. Ташкент.

Поступила 31.10.01.

**PECULIARITIES OF TOXIC EFFECT OF SOME CONTAMINATORS OF WATER  
MEDIUM ON STRUCTURAL FUNCTIONAL  
PARAMETERS OF HEPATOCYTES'**

*Kh. Ya. Karimov, F.H. Inoyatova, F.Sh. Inoyatov*

Tashkent State Second Medical Institute, Uzbekistan.

A prolonged intragastral intoxication of male and female rats by low doses of fluorine, zinc, chromium, arsenite, and combination of these compounds lead to developing cytolysis and hepatic-cellular insufficiency. These changes are more pronounced in female rats especially if chromium, arsenite and a combination of toxicants were used. They lead to developing hyper lipid peroxidation in male rats the most expressed by intoxication with arsenite and combined effect. Unlike to male rats LPO intensity in female rats was more pronounced and fixed by effect of all preparations. SOD activation was revealed to be in male rats by effect of chromium and especially zinc, in female rats by effect of fluorine and zinc. A distinctive inhibition of SOD activity determined to be by using arsenite and combination of toxicants. Activation of catalase especially in male rats was also revealed. Activation of membrane-destructive processes in the liver of experimental animals results in reducing pharmaco-metabolizing function of this organ.

**Key words:** contamination of water medium, salts of metals, liver, biotransformation, lipid peroxidation (LPO), antioxidant defense (AOS)