

УДК [577.158.52: 546.881.5].001.6

## ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭКОТОКСИКАНТОВ НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

© 2010 Л.Н.Самыкина, О.Я.Сказкина, Н.И.Дроздова, И.М. Ибрагимов

Самарский государственный медицинский университет  
НИИ гигиены и экологии человека

Поступила в редакцию 14.07.2010

В данной работе рассмотрено влияние оксида ванадия  $V_2O_5$  на ферментативную систему и состояние организма в целом. Сравнение активности пероксидазы в опытной и контрольной группе показало, что у животных после введения окиси ванадия произошло ингибирование фермента.

Ключевые слова: ксенобиотик, антиоксидантная защита, ферментативная система, пероксидаза.

Одним из наиболее опасных и масштабных по характеру воздействия на окружающую среду является химическое воздействие. В настоящее время в результате хозяйственной деятельности человека в биосфере циркулирует большое число различных чужеродных для человека и животных соединений, или ксенобиотиков (термин “ксенобиотики” дословно обозначает “чуждый жизни”), многие из которых имеют исключительно высокую токсичность. Наиболее опасные соединения называются экотоксикантами.

Экотоксиканты – ядовитые химические загрязнители окружающей среды, способные долгое время сохраняться, мигрировать и накапливаться в ее биотических и абиотических компонентах, оказывая длительное токсическое воздействие на человека и животных. В экологическом аспекте любые химические загрязнения являются чужеродным комплексом в экосистеме, и их принято подразделять по ГОСТ 12.1.007 на четыре класса опасности: I – чрезвычайно опасные, II – высоко опасные, III – умеренно опасные и IV – малоопасные. В настоящее время скорость увеличения вредного воздействия средовых химических факторов и интенсивность их влияния выходит за пределы биологической приспособляемости экосистем к изменениям среды обитания и создает прямую угрозу жизни и здоровью населения, поэтому требуется всестороннее изучение экотоксикантов и разработка мер борьбы с их распространением и повреждающим действием являются актуальной проблемой всемирного значения.

*Самыкина Лидия Николаевна, доктор биологических наук, профессор, директор НИИ гигиены и экологии человека, заведующая кафедрой медицинской биологии, генетики и экологии СамГМУ. E-mail: info@samsmu.ru.*

*Сказкина Ольга Яковлевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской биологии, генетики и экологии СамГМУ.*  
*Дроздова Нина Ивановна, заведующая лабораторией токсикологии НИИ гигиены и экологии человека СамГМУ.*  
*Ибрагимов Ильдар Маратович, лаборант кафедры медицинской биологии, генетики и экологии СамГМУ.*

Поступление токсичных веществ в организм осуществляется различными путями, в частности через желудочно-кишечный тракт, кожные покровы, через легкие. Процесс, посредством которого токсиканты попадают в организм из воздуха, почвы и воды и накапливаются в нем, называется биоаккумуляцией. С возрастанием силы и длительности воздействия ксенобиотика в организме происходят поэтапные процессы. Важнейшее значение играет транспорт веществ через клеточные мембраны, поэтому наибольшей способностью к биоаккумуляции обладают жирорастворимые вещества. Ксенобиотики адсорбируются волосами, ногтями, кожей и депонируются в ткани подкожной клетчатки. В результате накопления биоцидов в организме нарушается деятельность ферментных систем, регулирующих процессы обмена веществ, иммунологическая реактивность, деятельность органов дыхания, кровообращения, нервной, эндокринной, репродуктивной систем. На следующем этапе возникают симптомы болезни, разворачивается клиническая картина заболевания, и при неблагоприятном варианте течения наступает смерть. Не менее опасным является и канцерогенное и эмбриотоксическое действие ксенобиотиков, их способность вызывать повреждение структуры ДНК (Mn, V, Pl, Zn) и пикоз ядер.

Вся совокупность ксенобиотиков, находящихся в окружающей среде в определенных количествах, называется ксенобиотическим профилем среды. Ксенобиотический профиль различных регионов Земли формировался постепенно в течение многих миллионов лет и активно изменяется в настоящее время. Особенность ксенобиотического профиля Самарской области заключается в высоком содержании высокохлорированных диоксинов в почве, водоемах и атмосфере, в связи с работой завода химических удобрений в г. Чапаевске. Опасение вызывает загрязнение окружающей среды

соединениями тяжелых металлов, такими как ртуть, свинец, кадмий, цинк, ванадий.

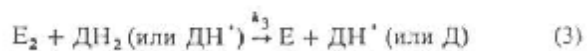
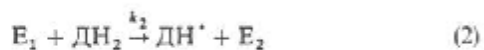
В данной работе будет рассмотрено влияние пятиокси ванадия на ферментативную систему и состояние организма в целом.

Ванадий – один из токсикантов, широко представленный в окружающей среде. Он относится к группе микроэлементов и является жизненно необходимым, так как участвует в процессах метаболизма и подавляет образование холестерина в кровеносных сосудах. С химической точки зрения ванадий довольно инертен. С кислородом он образует несколько оксидов:  $VO$ ,  $V_2O_3$ ,  $VO_2$ ,  $V_2O_5$ . В ходе работы использовался  $V_2O_5$  – кислотный водорастворимый оксид оранжевого цвета. Поступления этого соединения в организм происходит преимущественно через органы дыхания, выводится из организма экскреторными органами.

По характеру поражений органов и тканей водорастворимые соединения ванадия могут быть отнесены к ядам общетоксического действия. Пятиокись ванадия в больших количествах вызывает поражение ЦНС, сердечнососудистой и дыхательной систем. Установлено, что ванадий может тормозить синтез жирных кислот, подавлять образование холестерина, что способствует развитию атеросклероза. Ванадий ингибирует ряд ферментных систем, тормозит фосфорилирование и синтез АТФ, снижает уровень коэнзимов А и Q, стимулирует активность моноаминоксидазы и окислительное фосфорилирование. Известно также, что при шизофрении содержание ванадия в крови значительно повышается.

Избыточное поступление ванадия в организм обычно связано с экологическими и производственными факторами. При остром воздействии токсических доз ванадия у рабочих отмечаются местные воспалительные реакции кожи и слизистых оболочек глаз, верхних дыхательных путей, скопление слизи в бронхах и альвеолах. Возникают и системные аллергические реакции типа астмы и экземы; а также лейкопения и анемия, которые сопровождаются нарушениями основных биохимических параметров организма.

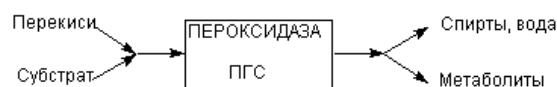
**ПЕРОКСИДАЗЫ** – ферменты класса оксидоредуктаз, катализирующие окисление с помощью перекиси водорода и разлагающие неорганические и органические вещества по схеме:



$E$ ,  $E_1$  и  $E_2$  – соответственно исходная пероксидаза и ее окисленные формы;  $DN_2$ ,  $DN'$  и  $D$  – соответственно исходный, полуокисленный и окисленный субстраты;  $k$ -константа скорости реакции.

Молекула пероксидазы состоит из следующих компонентов: полипептидной цепи, состоящей из около 300 аминокислотных остатков, простетической группы, представленной протогематином IX в центре молекулы, и гликопротеиновой части. Вокруг глобулы белка располагаются молекулы воды. В составе молекулы имеется катион железа Fe III, связанный 5 координационными связями с белковой частью. В рабочем цикле белка шестое место занимает молекула пероксида.

Пероксидазы широко распространены в животных и растительных клетках, они могут находиться как в связанном с клеточной стенкой состоянии, так и в цитоплазме. В организме человека пероксидаза содержится преимущественно в лейкоцитах и слизистой тонкого кишечника, где она существует в виде нескольких форм (изоферментов), состав и соотношение между которыми зависит от состояния организма и влияния факторов окружающей среды. Обширная группа пероксидаз участвует в разрушении перекиси водорода и других перекисей, превращая их в воду и спирты.



Например, лейкоцитарная пероксидаза – пероксидаза эозинофилов разрушает перекись водорода, продуцируемую в легких клетками крови при их контакте с кислородом. Поэтому эти энзимы могут участвовать в биопревращении чужеродных веществ в легких.

Простогландинсинтетаза активирует образование простогландинов (гидроперекисей жирных кислот) из арахидоновой кислоты. В ходе последующего восстановления гидроперекисей окисляются другие субстраты и среди них ксенобиотики, содержащиеся в тканях. В ходе процесса потребляется арахидоновая кислота и ксенобиотики, а продуцируются простогландины и окисленные формы этих ксенобиотиков. Широкое распространение ПГС в тканях млекопитающих позволяет предположить, что этот механизм может лежать в основе целого ряда реакций биопревращения чужеродных соединений, особенно в тканях с низкой активностью, например, мозговом слое почек, эндотелии мочевого пузыря.

В эритроцитах, печени, хрусталике глаза имеется глутатионпероксидаза, которая содержит селен и специфично окисляет восстановленный глутатион. Глутатионпероксидаза может вос-

становливать гидроперекиси свободных жирных кислот, гидроперекиси фосфолипидов, эстерифицированных жирных кислот, превращая липоперекиси в менее токсичные оксикислоты и этим предупреждают повреждение биоструктур.

Миелопероксидаза разрушает токсическую перекись водорода, образующуюся внутриклеточно в процессе жизнедеятельности клеток. Миелопероксидаза – железосодержащий геминный фермент, локализующийся преимущественно в специфической зернистости цитоплазмы гранулоцитов и являющийся маркером клеток миелоидной природы. Активированное этим ферментом разрушение белка клеточной стенки бактерий является смертельным для микроорганизма, а активированное им йодинирование частиц относится к бактерицидной функции лейкоцитов.

**Цель работы:** Определение активности пероксидазы в крови лабораторных животных при воздействии на организм пятиокиси ванадия.

**Объект и методы исследования.** Исследования проводились на лабораторных крысах Wistar, которые содержались в виварии в НИИ гигиены на стандартном кормовом рационе. Были сформированы две группы животных: первая группа – 6 особей – экспериментальная, вторая группа – также 6 особей – контрольная. Пятиокись ванадия вводилась подкожно крысам экспериментальной группы в количестве 0,25 DL<sub>50</sub>, что составляло 3 мг на килограмм массы тела. Необходимая концентрация V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> содержалась в 2,3 мл исходного раствора. Крысам контрольной группы вводили соответствующие объёмы дистиллированной воды. Введение ксенобактерицида проводилось пятикратно с интервалом в три дня. На третий день после последнего введения пятиокиси ванадия был произведен забор крови из хвостовой вены лабораторных животных экспериментальной и контрольной групп

**Таблица 1.** Результаты определения пероксидазы в цельной крови контрольной группы лабораторных животных

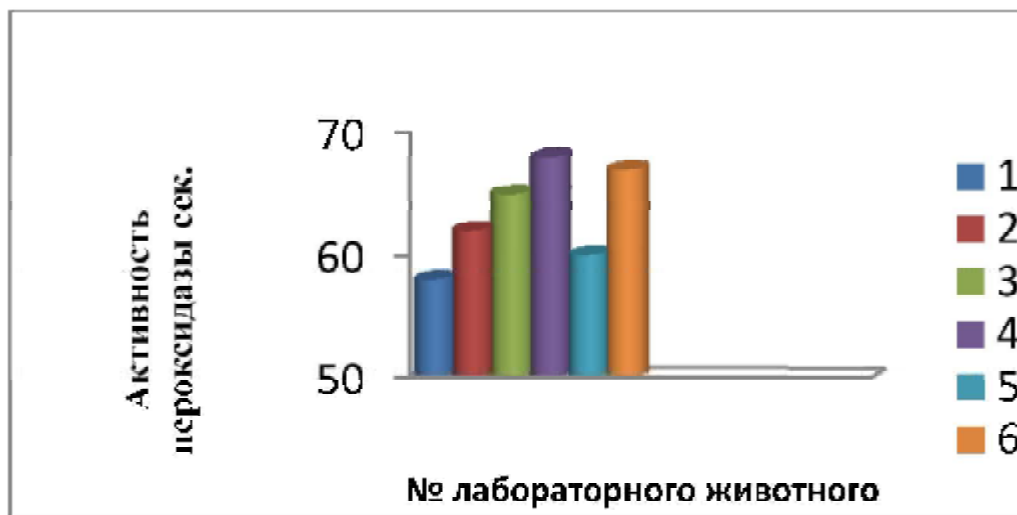
Группа	№ животного	Пероксидаза, сек.
Контроль	1	58
	2	62
	3	65
	4	68
	5	60
	6	67
	X	63,33
	m	1,63
	S	3,98
	V%	6,29

для определения активности пероксидазы.

**Ход работы и результаты:** Определение активности пероксидазы проводилось по методу В.С. Асатиани. Принцип метода основан на определении скорости реакции окисления индигокармина в слабнокислой среде в присутствии пероксидазы крови. Мерой активности пероксидазы служит время, необходимое для окисления индигокармина. Пероксидазная активность крови выражается в секундах. В норме этот показатель составляет 30-50 секунд.

В результате проведенного исследования установлено, что в контрольной группе средний показатель активности пероксидазы в среднем составлял 63,33 секунды (табл. 1, рис. 1). Диапазон изменения этого признака – от 58 до 67 секунд. В опытной группе после введения пятиокиси ванадия среднее значения активности пероксидазы 53,17 секунды. Показатель варьировал от 50 до 56 секунд (табл. 2, рис. 2).

Сравнение активности пероксидазы в опытной и контрольной группе показало, что у животных после введения пятиокиси ванадия произошло ингибирование фермента (рис.3). При доверитель-

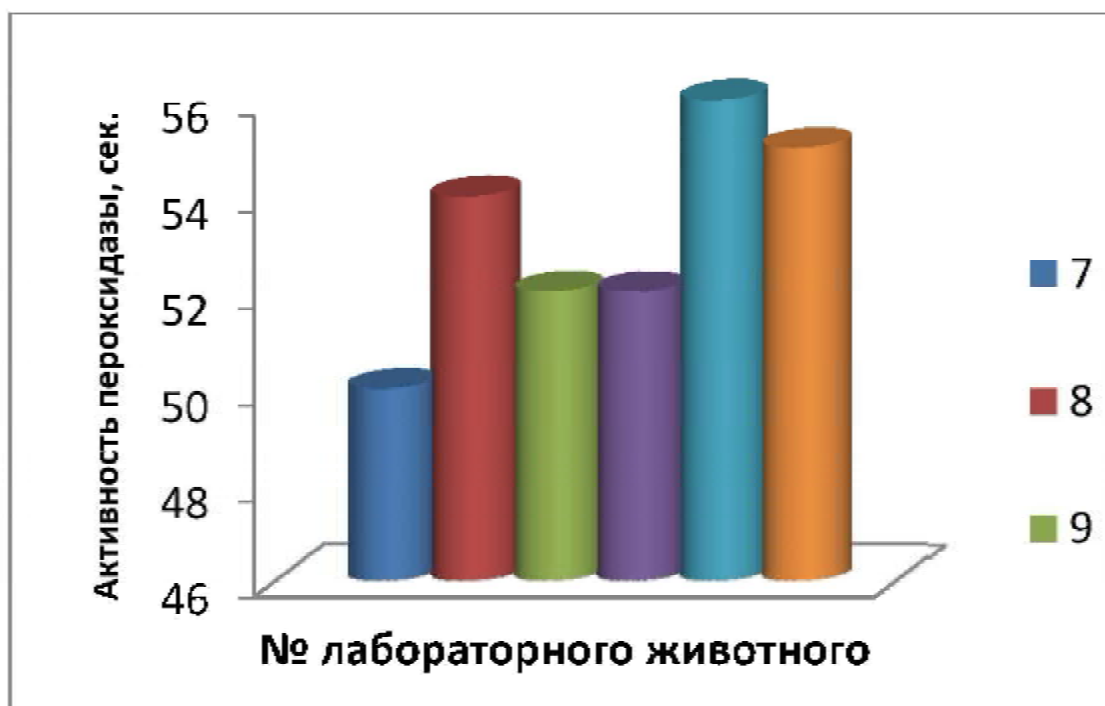


**Рис. 1.** Активность пероксидазы в цельной крови контрольной группы лабораторных животных

**Таблица 2.** Результаты определения пероксидазы цельной крови опытной группы лабораторных животных

Наименование группы	№ животных	Пероксидаза, сек.
Опыт, 2 группа	7	50
	8	54
	9	52
	10	56
	11	52
	12	55
Статистические параметры	n	6
	X	53,17
	m	0,91
	S	2,23
	V%	4,19
	t	5,96
	T таб.	2,23

Статистические параметры: n – количество наблюдений; X – суммарная среднеарифметическая; M – ошибка суммарной среднеарифметической; S – суммарное среднеквадратическое отклонение, V% – коэффициент вариации; t – критерий Стьюдента; T таб. – табличное значение критерия Стьюдента.



**Рис. 2.** Активность пероксидазы в цельной крови опытной группы лабораторных животных

ной вероятности, т.е. надежности  $r > 0,95$ , табличное значение критерия Стьюдента при  $n = 6$  равно 2,23. Полученное в результате статистических расчетов значение критерия Стьюдента, равное 5,96 свидетельствует о том, что активность пероксидазы крови в контрольной группе достоверно превышает таковую в опытной группе.

**Выводы:**

1. Пятиокись ванадия при параэнтеральном

введении в организм лабораторных животных инактивирует пероксидазу крови. По сравнению с контрольной в экспериментальной группе активность пероксидазы снизилась в 1,88 раз.

2. Пятиокись ванадия, являясь ксенобиотиком общетоксического действия, нарушает антиоксидантную защиту организма, ингибирует ферментные системы и таким образом тормозит фосфорилирование и синтез АТФ.

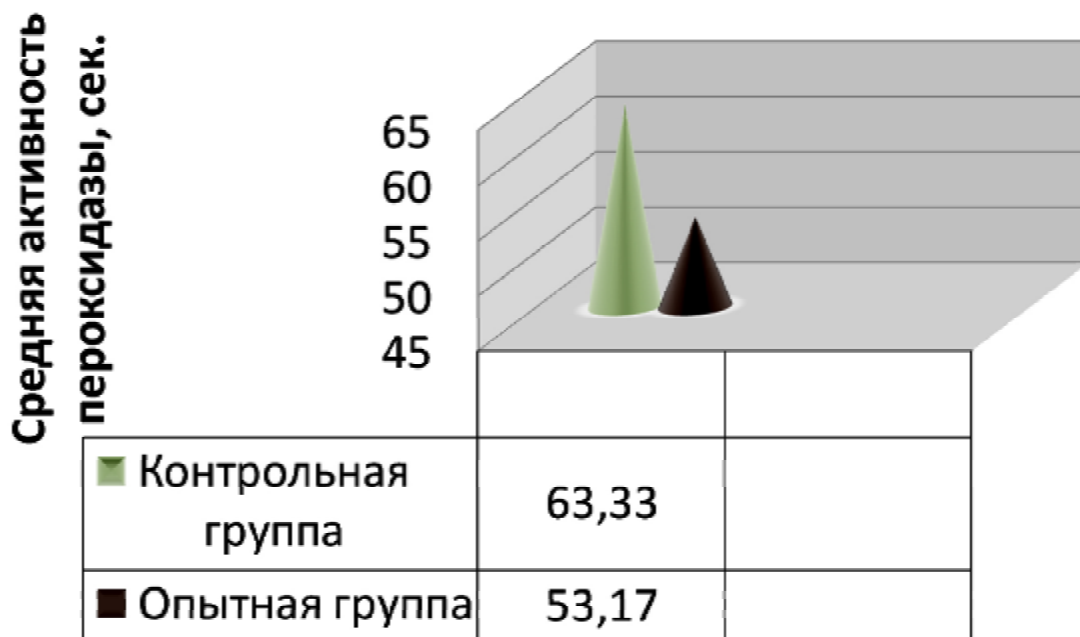


Рис. 3. Средняя активность пероксидазы у крыс опытной и контрольной групп

### CHANGE OF ACTIVITY PEROXIDASA AT INFLUENCE ECOTOXICANT ON AN ORGANISM OF LABORATORY ANIMALS

© 2010 L.N. Samykina, O.J. Skazkina, N.I. Drozdova, I.M. Ibragimov

Samara State Medical University  
Scientific Research Institute of Hygiene and Ecology of the Person

In the given work influence oxid vanadium  $V_2O_5$  on enzymatic system and a condition of an organism as a whole will be considered. Comparison of activity peroxidasa in skilled and control group has shown, that animals after introduction oxid vanadium had inhibition of enzyme.

Key words: alienbiot, antioxidant protection, enzymatic system, peroxidasa.

*Lydia Samykina, Dr.Sci.Biol., the Professor, Director of Scientific Research Institute of Hygiene and Ecology of the Person, Managing Faculty of Medical Biology, Genetics and Ecology SamGMU. E-mail: info@samsmu.ru.*

*Olga Skazkina, The Candidate Of Medical Sciences, the Senior Lecturer of Faculty of Medical Biology, Genetics and Ecology. Nina Drozdova, Managing Laboratory of Toxicology of Scientific Research Institute of Hygiene and Ecology of Person SamGMU.*

*Ildar Ibragimov, laboratory assistant of Faculty of Medical Biology, Genetics and Ecology.*