

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ ЭРИТРОЦИТОВ КАК ПОКАЗАТЕЛЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЯТИОКСИДИ ВАНАДИЯ

© 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

Одним из приоритетных ксенобиотиков Самарской области является оксид ванадия. Основным путем поступления ванадия в организм – вдыхание пыли, содержащей оксиды ванадия. Следует отметить, что те дозы оксида ванадия V_2O_5 , которые использовались в опытах, многократно превышают концентрации, имеющие место в природе. Нами установлено, что при введении в организм лабораторных животных оксида ванадия нарушается система антиоксидантной защиты организма. Это выражается в изменении резистентности эритроцитов и их разрушении. Наблюдается также выраженная тенденция к снижению активности каталазы.

Ключевые слова: ксенобиотик, антиоксидантная защита, эритроциты, каталаза.

Выхлопные газы автомобилей, выбросы промышленных предприятий, отходы животноводческих комплексов, аэрозоли, удобрения, пестициды, моющие средства, пищевые консерванты и красители — трудно даже перечислить все органические и неорганические вещества, загрязняющие природу. Следовые количества этих и подобных веществ сохраняются в растениях, попадают в молоко и мясо сельскохозяйственных животных... Одним словом, в организм человека с пищей, водой и воздухом проникает множество химических веществ, для него совершенно чуждых, а нередко и очень вредных.

Как это ни удивительно, ученые в полной мере осознали значение постоянного присутствия чужеродных веществ в пище совсем недавно — в 50-е годы XX в. Тогда же было дано и определение понятию “чужеродное вещество”, “чужеродное соединение” — это вещество, которое данный организм не может использовать ни для производства энергии, ни для построения каких-либо своих частей. В последнее десятилетие в литературе все шире употребляется как синоним понятия “чужеродное вещество” термин “ксенобиотик” (от греческого “ксенос” — чужой, “биос” — жизнь. К ним относятся: пестициды, минеральные удобрения, моющие средства (детергенты), радионуклиды, синтетические красители и др.

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.

Попадая в окружающую природную среду, они могут вызвать аллергические реакции, гибель организмов, изменить наследственные признаки, снизить иммунитет, нарушить обмен веществ, нарушить ход процессов в естественных экосистемах вплоть до уровня биосферы в целом. В большинстве случаев ксенобиотики, попадая в живые организмы, могут вызывать различные прямые нежелательные эффекты, либо вследствие биотрансформации образовывать токсичные метаболиты.

Ученые обнаружили, что в организме животных и человека имеется довольно много различных механизмов защиты от ксенобиотиков. Главные из них:

- система барьеров, препятствующих проникновению ксенобиотиков во внутреннюю среду организма, а также защищающих особо важные органы — мозг, половые и некоторые другие железы внутренней секреции, — от тех чужеродных агентов, которые все же прорвались во внутреннюю среду;
- особые транспортные механизмы для выведения ксенобиотиков из организма;
- ферментные системы, которые превращают ксенобиотики в соединения менее токсичные и легче удаляемые из организма;
- тканевые депо, где могут накапливаться некоторые ксенобиотики.

Липофильные ксенобиотики в настоящее время вызывают особенное внимание экологов и токсикологов, так как, накапливаясь в жировых тканях, способны переходить по пищевой цепи в организмы животных и человека, превращаясь в более полярные и, следовательно, более легко усваиваемые или экскретируемые вещества.

Одним из приоритетных ксенобиотиков Самарской области является пятиокись ванадия. Основной путь поступления ванадия в организм – вдыхание частичек пыли, содержащих оксиды ванадия (например, на металлургическом производстве или вблизи объектов, на которых сжигаются содержащие пятиокись ванадия нефтепродукты или уголь). Этот путь является и наиболее опасным с точки зрения негативного влияния на здоровье человека. Наибольшему воздействию при вдыхании содержащей пятиокись ванадия пыли подвержены легкие, бронхи, глаза. Рабочие, вдыхавшие такую пыль даже непродолжительное время, жалуются на раздражение и хрипы в легких, кашель, боли в груди, насморк и першение в горле. Иногда наблюдается удушье, зеленоватый налет на языке и побледнение кожных покровов. Правда, эти признаки исчезают уже вскоре после прекращения вдыхания загрязненного воздуха. Аналогичные результаты были получены и на животных. По данным Агентства по учету токсических веществ и болезней США (US Agency for Toxic Substances and Disease Registry) других типов воздействия пятиокиси ванадия на организм человека не наблюдается. Данные об отрицательном влиянии этого соединения при его поступлении с пищей или при кожном контакте отсутствуют. Тем не менее, опыты, проводившиеся на животных, показали, что воздействие сверхвысоких доз пятиокиси ванадия приводит к смертельному исходу. У новорожденных крысят, полученных от беременных самок, подвергавшихся воздействию несколько меньших доз, наблюдались тератогенный и мутагенный эффекты. У животных, долгое время вдыхавших или получавших с пищей значительные количества окиси ванадия, появлялись незначительные проблемы с печенью и почками. Следует отметить, что те дозы пятиокиси ванадия, которые использовались в опытах, многократно превышают концентрации, имеющие место в природе.

Одним из ферментов, который входит в состав антиоксидантов системы органов, обеспечивающих защиту от ксенобиотиков – является каталаза. Каталаза представляет собой геминный фермент, простетической группой которого является гем, содержащий обратимо изменяющийся Fe (II) – Fe (III) ион. Молекула каталазы состоит из четырех, по-видимому, идентичных субъединиц с молекулярной массой 60 000 и имеет соответственно четыре простетические группы. Феррипротопорфириновые группы гема прочно связаны с белковой частью фермента – апоферментом и не отделяются от него при диализе. Оптимальная величина pH для каталазы находится в интервале значений 6,0–8,0.

Каталаза широко распространена в тканях животных, в т.ч. человека, растений и в микроорганизмах (однако фермент полностью отсутствует у некоторых анаэробных микроорганизмов). В клетках каталаза локализуется в специальных органеллах – пероксисомах.

Каталаза – фермент, катализирующий реакцию разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород: $2\text{H}_2\text{O}_2 = \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$. Биологическая роль каталазы заключается в деградации перекиси водорода, образующейся в клетках в результате действия ряда флавопротеиновых оксидаз (ксантинооксидазы, глюкозооксидазы, моноаминооксидазы и др.), и обеспечении эффективной защиты клеточных структур от разрушения под действием перекиси водорода.

Методы определения активности каталазы основаны на регистрации образующегося в процессе реакции O_2 (манометрическим или полярографическим методами) или на измерении текущей (спектрофотометрическим) или остаточной (перманганатометрическим, йодометрическим и другими титриметрическими методами) концентрации перекиси водорода.

Активность каталазы в эритроцитах остается постоянной при ряде заболеваний, однако при злокачественной и других макроцитарных анемиях увеличивается так называемый каталазный индекс (отношение величины каталазной активности определенного объема крови к количеству эритроцитов в этом объеме), имеющий существенное диагностическое значение. При злокачественных новообразованиях отмечается уменьшение активности каталазы в печени и почках, причем существует зависимость между величиной опухоли, скоростью ее роста и степенью уменьшения активности каталазы печени. Из некоторых опухолей выделены вещества – токсогормоны, которые при введении экспериментальным животным вызывают у них снижение активности каталазы в печени.

Целью работы является определение активности каталазы в крови лабораторных животных при воздействии пятиокиси ванадия.

Исследования проводились на лабораторных крысах линии Wistar, которые содержались в виварии в НИИ гигиены и экологии человека СамГМУ на стандартном кормовом рационе. Были сформированы 2 группы животных, по 6 особей в каждой: экспериментальная и контрольная. Пятиокись ванадия вводилась внутрибрюшинно крысам экспериментальной группы в количестве $0,25 \text{ DL}_{50}$ (половинно смертельная доза при внутрибрюшинном введении), что составляло 3 мг на 1 кг массы тела. Необходимая концентрация пятиокиси ванадия содержалась в 2,3 мл исходного раствора. Крысам конт-

рольной группы вводили соответствующие объёмы дистиллированной воды. Введение ксенобiotика проводилось пятикратно с интервалом в три дня. На третий день после последнего введения пятиокси ванадия был произведен забор крови из хвостовой вены лабораторных животных экспериментальной и контрольной групп для определения активности каталазы.

Сначала подсчитывали число эритроцитов в 1 кубическом мм крови (табл. 1 и 2, рис. 1 и 2). Для этого использовали счетную камеру Горяева. Принцип метода подсчета кровяных клеток в камере состоит в том, что в стеклянной пластине вышлифовывают пространство определенного объема (например, 1 кубический мм), пространство заполняется кровью и под микроскопом подсчитывают клеточные элементы. В норме этот показатель у самок лабораторных крыс составляет 6700000 в 1 мм³. Затем опреде-

ляют каталазное число методом титрования. Каталазное число относят к числу эритроцитов в 1 мм³. Результатом этого является показатель активности каталазы. В норме каталазный индекс крови у лабораторных крыс составляет 0,836 – 0,897.

В результате проведенного исследования установлено, что количество эритроцитов в контрольной группе варьировало у разных особей от 6450000 до 6670000. В среднем этот показатель составил 6570000. В опытной группе после подкожного введения раствора пятиокси ванадия у всех особей количество эритроцитов в 1 мм³ крови снизилось и колебалось в пределах от 5400000 до 5620000 (рис. 3). В среднем этот показатель составил 550000. Полученное в результате статистических расчетов значение критерия Стьюдента при подсчете количества эритроцитов равно 2,17, что свидетельствует о том, что снижение числа эрит-

Таблица 1. Количество эритроцитов (млн/мм³) и активность каталазы цельной крови лабораторных животных контрольной группы

Группа	№ жив.	К-во эритро-цитов, млн/мм ³	Каталазное число	Показатель каталазы
Контроль, 1 группа	1	6,620	9,01	1,361
	2	6,670	8,67	1,299
	3	6,590	8,84	1,314
	4	6,470	9,18	1,419
	5	6,620	8,67	1,309
	6	6,450	8,84	1,371
Статистические параметры	n	6		6
	X	6,570		1,350
	m	0,04		0,02
	S	0,09		0,05
	V%	1,36		3,5
	t			
	T таб.			

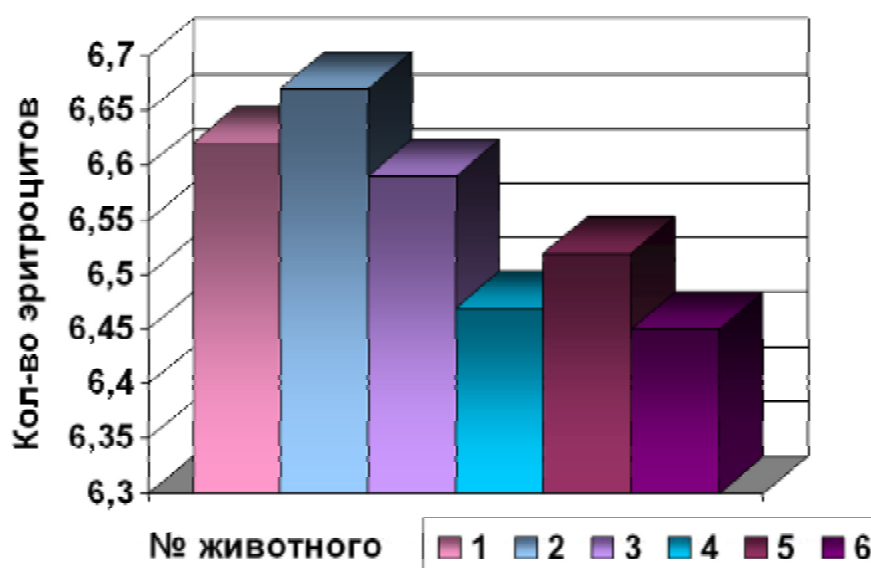


Рис. 1. Количество эритроцитов в крови (млн/мм³) у крыс контрольной группы

Таблица 2. Количество эритроцитов (млн/мм³) и активность каталазы цельной крови лабораторных животных экспериментальной группы

Группа	№ жив.	К-во эритроцитов, млн/мм ³	Каталазное число	Показатель каталазы
Опыт, 2 группа	7	5,560	6,63	1,192
	8	5,620	8,33	1,482
	9	5,400	5,1	0,944
	10	5,470	8,16	1,492
	11	5,520	5,95	1,078
	12	5,440	5,44	1,000
Статистические параметры	n	6		6
	X	5,500		0,120
	m	0,03		0,10
	S	0,08		0,24
	V%	1,47		19,94
	t	21,70		1,98
	T таб.	2,23		2,23

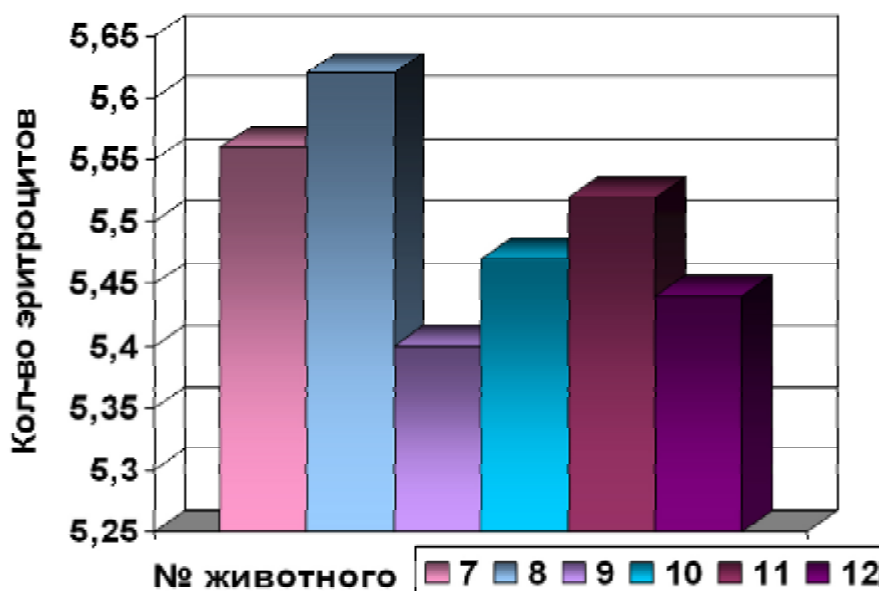


Рис. 2. Количество эритроцитов в крови (млн/мм³) у крыс экспериментальной группы

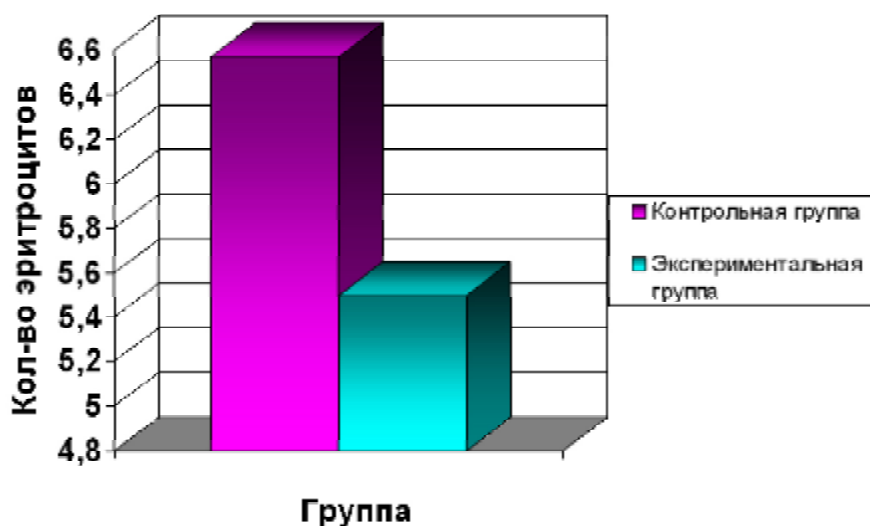


Рис. 3. Средний показатель количества эритроцитов у крыс контрольной и экспериментальной групп.

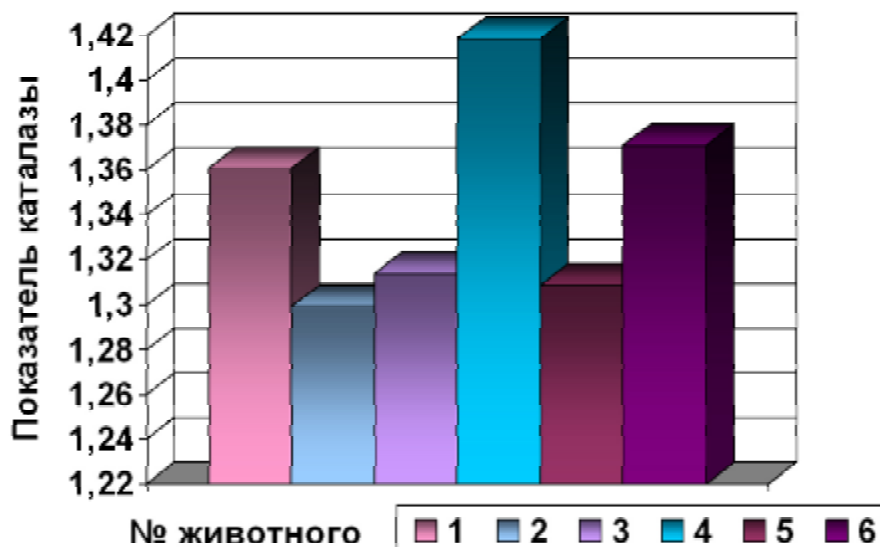


Рис. 4. Показатель каталазы у крыс контрольной группы

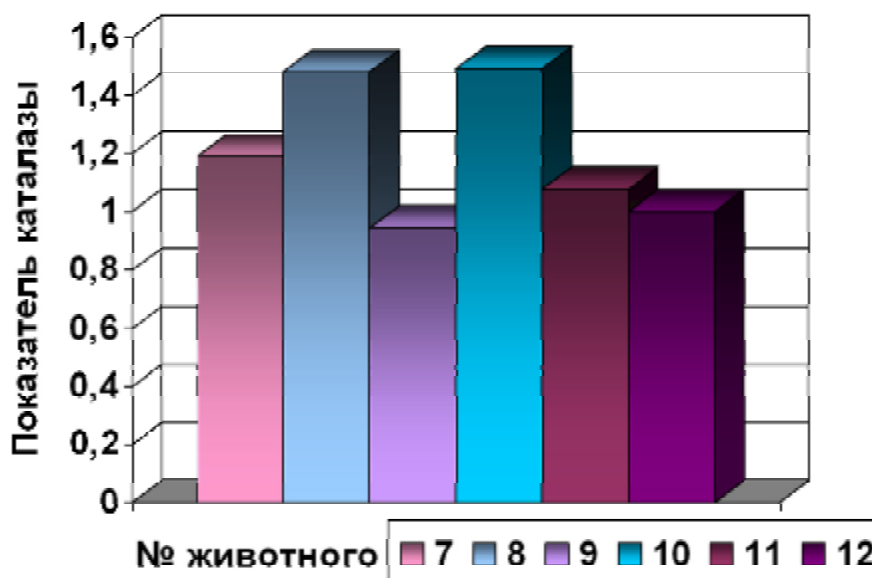


Рис. 5. Показатель каталазы у крыс экспериментальной группы

роцитов после воздействия пятиокси ванадия имеет тенденцию к достоверности (табличное значение критерия Стьюдента – 2,23). Следовательно воздействие этого ксенобиотика нарушает резистентность эритроцитов и они разрушаются.

При определении активности каталазы у животных контрольной группы величина показателя изменялась от 1,299 до 1,419 (рис. 4). В среднем показатель активности каталазы 1,350. В экспериментальной группе после введения пятиокси ванадия активность каталазы колебалась в пределах от 0,944 до 1,492 (рис. 5). Среднее значение этого показателя 1,120. Критерий Стьюдента ниже табличного – 1,98 (2,23). Это означает, что имеется выраженная тенденция к снижению активности каталазы цельной крови при воздействии пятиокси ванадия (рис. 6).

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

- 1) При введении в организм лабораторных животных пятиокси ванадия нарушается система антиоксидантной защиты организма. Это выражается в изменении резистентности эритроцитов и их разрушении. Наблюдается так же выраженная тенденция к снижению активности каталазы.
- 2) Вероятно механизм инактивации каталазы связан с неконкурентным ингибированием этого фермента водорастворимым соединением ванадия.
- 3) Высокие дозы пятиокси ванадия ингибируют активность каталазы крови лабораторных животных, нарушают ее биологическую роль. По-видимому аналогичные процессы происходят не только в клетках крови, но и во всех клетках и тканях организма.

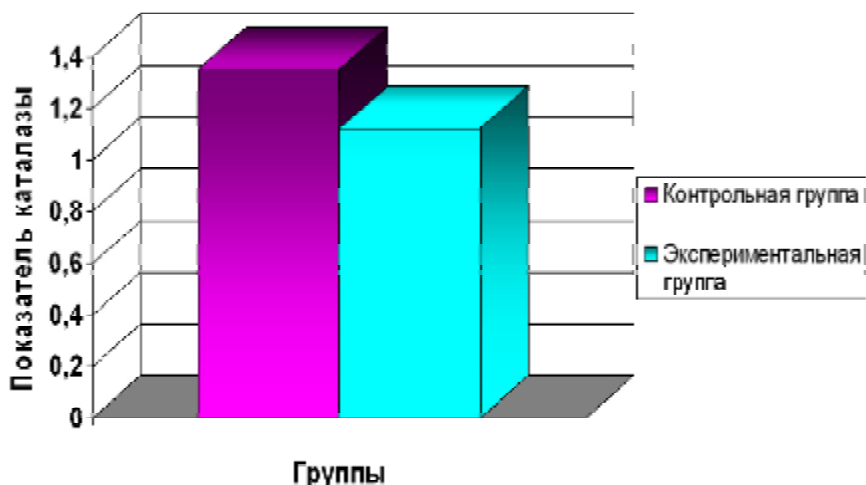


Рис. 6. Средний показатель каталазы у крыс контрольной и экспериментальной групп.

DEFINITION OF ACTIVITY KATALASA ERYTHROSYTE AS PARAMETER OF ANTIOXIDANT PROTECTION OF THE ORGANISM OF LABORATORY ANIMALS AT INFLUENCE OXID OF VANADIUM

© 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

One of priority alienbiot the Samara area is oxid vanadium. The basic way of receipt of vanadium to an organism - inhalation of the dust containing oxid of vanadium. It is necessary to note, that those dozes oxid vanadium V_2O_5 which were used in experiences, repeatedly exceed the concentration having a place in the nature. By us it is established, that at introduction in an organism of laboratory animals oxid vanadium the system antioxidant protection of an organism is broken. It is expressed in change of resistency erythrocyte and their destruction. The expressed tendency to decrease (reduction) in activity katalasa is observed also.

Key words: alienbiot, antioxidant protection, erythrocyte, katalasa.

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.