ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ПЕЧЕНИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
СВИНЦА И МОДЕЛИРОВАНИЕ ФАКТОРОВ ЦВЕТНОЙ МЕТАЛЛУРГИИ

М. Г. Фарафонов

Уральский медицинский институт

Известно, что свинцовые интоксикации занимают значительное место среди профессиональных хронических отравлений. Помимо профессиональных отравлений, воздействию низких доз свинца подвергается широкий контингент лиц. Несмотря на успехи в изучении воздействия свинца на процессы метаболизма, остается малоизученным вопрос о влиянии свинца на энергетические процессы в тканях, в частности, в печени, обеспечивающей поддержание основных гомеостатических параметров организма.

Результаты проведенных ранее исследований тканевого дыхания [5] свидетельствуют о наличии существенных нарушений энергетических процессов в митохондриях печени, которые проявляются в виде стимуляции ротенон- и малонатрезистентного окисления и соответствующих изменений других функциональных свойств митохондрий.

Цель данной работы - изучение активности окислительных ферментов митохондрий печени при длительном поступлении солей свинца и моделировании комплексного воздействия соединений свинца, меди и сернистого ангидрида, характерных для выбросов медеплавильных предприятий.

Эксперименты проводили на белых крысах-самцах с исходным весом 180-200 г. В первой серии опытов животные ежедневно получали внутривенно нитрат свинца - 34 мг/кг массы (1/10 LD50) в течение 50 и 100 суток. Во второй серии - одновременно такое же количество нитрата свинца и 2 мг/кг нитрата меди. Животных второй серии ежедневно на 4 часа

помещали в затравочную камеру с концентрацией сернистого ангидрида 55-65 мг/м.

В митохондриях печени крыс определяли активность ферментных комплексов дыхательной цепи NADH:цитохром с-оксидоредуктазы (Кф 1.6.99.3) и сукцинат:цитохром с-оксидоредуктазы (сукцинатдегидрогеназы) (Кф 1.3.99.1). Активность определяли по восстановлению цитохрома с при окислении NADH [6]. При определении сукцинатдегидрогеназы использовали реакцию восстановления цитохрома с янтарной кислотой с регистрацией на спектрофотометре при длине волны 550 нм [8].

Определение активности NADH:цитохром-с-оксидоредуктазы (НАДН-ор) позволяет получить информацию о состоянии начальных этапов дыхательной цепи, связанных с окислением субстратов, поставляющих электроны на первый электронтранспортный комплекс. Сопоставление активности сукцинатаксилирующего ферментного комплекса с активностью ферментов первого комплекса электронпереносающей цепи позволяет судить о взаимоотношениях этих систем и их значимости в энергетике клетки при различных воздействиях. Результаты исследования НАДН-ор показывают, что изменение активности данного ферментного комплекса наблюдаются лишь при 100-суточном введении нитрата свинца (табл. 1). Скорость окисления экзогенного NADH снижается на 33% по сравнению с контролем. В более короткие сроки воздействия статистически значимых различий не найдено. Механизм ингибирования НАДН-ор может быть обусловлен как непосредственным связыванием ионов свинца с оксидоредуктазой, так и влиянием на этот фермент металлопорфиринов, являющихся продуктами аномального синтеза гема, которые ингибируют дегидрогеназную активность в никромольных концентрациях [9]. Известно, что свинцовая интоксикация сопровождается увеличением выработки данных соединений. Нельзя также исключить возможность конкурентного

торможения НАД-зависимого звена дыхательной цепи системой окисления жирных кислот, активация которой показана в наших полярографических исследованиях с применением ингибиторов [5].

Известно, что электронтранспортная активность элементов дыхательной цепи определяется соотношением НАДН- и сукцинатоксидазных комплексов [3, 7]. При высокой активности сукцинатдегидрогеназы поток электронов от сукцината значительно возрастает, снижая окисление НАДН. В связи с этим соотношение активностей двух ферментных систем - НАДН-ор/СДГ является надежным показателем, отражающим соотношение различных окислительных путей в митохондриальном дыхании. Расчеты показывают прогрессирующее снижение коэффициента, отражающего соотношение активностей ферментных систем (табл. 1).

Через 100 суток затравки это соотношение снижается более чем в 2 раза, что связано с уменьшением активности НАДН-ор. Снижение окисления НАДН, определяемое ферментными методами, хорошо согласуется с нашими данными по активации флавопротеинзависимого дыхания митохондрий, обнаруженного полярографическими исследованиями.

Определение активности ферментов при комплексном воздействии показало закономерное снижение исследуемых показателей при увеличении сроков затравки (табл. 2). Как и в случае свинцовой интоксикации, более выраженные изменения наблюдаются в активности НАДН:цитохром с- оксидоредуктазы, причем при моделировании воздействия недеплавильного завода снижение НАДН-ор более существенно. Обнаруженная реакция, вероятно, объясняется стойким низкоэнергетическим сдвигом в метаболическом состоянии митохондрий в результате длительной затравки.

Таблица 1

Активность ферментов в митохондриях печени при
воздействии свинца, Е/мин. на мг белка

Ферменты	Контроль	Введение свинца 50 суток	Введение свинца 100 суток
NADH:цитохром с- оксидоредуктаза	0,45±0,06	0,61±0,11	0,29±0,06 p < 0,05
Сукцинат: цито- хром с-оксидо- редуктаза	0,20±0,02	0,32±0,05	0,20±0,02
Отношение НАДН-ор	2,9±0,6	2,2±0,2	1,3±0,3 p < 0,05
СДГ			

Данные литературы, посвященные изучению активности сукцинатдегидрогеназы, противоречивы. Так, например, при 7-дневном подкожном введении нитрата свинца активность сукцинатдегидрогеназы митохондрий печени и почек не изменялась [1]. Наряду с этим имеются данные, свидетельствующие об угнетении свинцом активности сукцинатдегидрогеназы митохондрий миокарда, печени, почек [3, 4].

Активность сукцинатдегидрогеназного комплекса митохондрий в наших опытах, существенно не изменялась при свинцовой интоксикации. При комплексном 100-суточном воздействии отмечалось достоверное снижение показателя.

Таблица 2

Активность ферментов в митохондриях печен. при
воздействии свинца, меди и сернистого ангидрида.
Е/мин. на мг белка

Ферменты	Контроль	Затравка : 50 суток	Затравка : 100 суток
NADH:цитохром с- оксидоредуктаза	0,71±0,14	0,59±0,09	0,29±0,05 : P < 0,01
Сукцинат:цитохром с- оксидоредуктаза	0,21±0,05	0,21±0,06	0,17±0,03 : P < 0,05

Результаты исследований активности ферментов печени показывают, что при длительной свинцовой интоксикации наиболее уязвимым звеном митохондриального окисления является первый сегмент дыхательной цепи. При моделировании комплексного воздействия вредных факторов предприятий цветной металлургии снижается общая потенциальная активность ферментов митохондрий в условиях длительного воздействия.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Булмасова С. П. Активность глутаматдегидрогеназы и сукцината дегидрогеназы в митохондриях печени и почек белых крыс при свинцовой интоксикации. // Научные труды Иркутск. мед. ин-та 1973, Т. 121, С. 6-8.
2. Златева Н., Антоф Г. Промени в активността на някои

дегидрогенази във вътрешните органи на бели плъхове при продължително въвеждане на съединения свинца и манган. // Хигиена и здравеопазване, 1974, 17, Т. 1, С. 21-28.

3. Кондрашова М. Н., Евтодиенко Ю. В., Миронова Г. Д. и др. Ногча и патология с позиций энергетики митохондрий, М.: Наука, 1977, С. 249-270.

4. Мирочник Л. М., Умарова Н. В. Некоторые показатели активности дыхательных ферментов при хронических интоксикациях свинцом и тетраэтилсвинцом. // Проблемы гигиены и организ. здравоохран. в Узбекистане. Ташкент, 1974, С. 77-78.

5. Фарафонов М. Г. Функциональное состояние митохондриальных процессов при длительном воздействии низких доз свинца // Механизмы аварийного регулирования и адаптации при действии на организм экстремальных факторов. Свердловск, 1984, С. 40-48.

6. Brodie A. F. DPNH-cytochrom c reductase: Methods in Enzymology. // N. Y. Acad. Sci., 1955, V. 2, P. 693-699.

7. Chance B., Hollunger G. The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria. III. Substrate requirements for pyridine nucleotide reduction in mitochondria // J. Biol. Chem. 1961, V. 236, N5, P. 1555-1562.

8. Hatefi Y., Haavik A. G., Iurtschuk P. I. Studies on the electron transport system DPNH-cytochrome c reductase // Biochem. et Biophys. Acta. 1961, V. 52, P. 106-112.

9. Silverstein E. Inhibition of certain mitochondrial oxidative enzymes by porphyrins and metalloporphyrins // Biochem. Pharmacol. 1962, V. 11, P. 431-444.