

Ф.Ш. Иноятов

Половые особенности действия аэрогенных токсических веществ на продолжительность гексеналового сна у крыс

Ингаляционная затравка малыми концентрациями токсических веществ в течение трех месяцев приводит к замедлению биотрансформации гексенала у самцов, тогда как ацетат свинца и диоксид серы в меньшей мере влияют на изучаемый показатель. В отличие от самцов у самок фенол удлиняет продолжительность гексеналового сна. Аммиак не оказывает влияния, тогда как формальдегид, ацетат свинца и диоксид серы ускоряют биотрансформацию данного соединения. Выявленный половой диморфизм МОС печени и особенности их гормональной регуляции, видимо, определяют более выраженную гепатотоксичность изученных нами соединений у самцов.

ВВЕДЕНИЕ

Химические вещества вследствие прогрессирующего загрязнения окружающей среды оказывают свое негативное влияние [13]. Ежегодно примерно 500 новых химических веществ поступает на коммерческий рынок и борьба с загрязнениями внешней среды приобретает особую актуальность [1,3].

Наибольшую опасность (особенно в регионе Узбекистана) представляют такие загрязнители воздушного бассейна, как оксиды серы, углерода, ацетат свинца, аммиак, фенол, формальдегид и др. [10,14]. Несмотря на изученность токсичности этих соединений [7 – 9], вопросы влияния их на детоксицирующую функцию печени остаются недостаточно раскрытыми.

Известно, что в результате биотрансформации ксенобиотиков, которая осуществляется в основном монооксигеназной системой (МОС) печени, образуются высокотоксичные стабильные радикалы, оказывающие специфическое действие на макромолекулы [2,4]. Активность их имеет по-

ловые, видовые и возрастные различия [2, 5, 15]. Образующиеся реакционно-способные метаболиты, оказывающие токсический эффект, могут связываться не только с альбуминами, но и непосредственно с молекулами тех ферментов, которые их производят, в частности с цитохромом Р-450 [6]. При этом развивающееся ингибирование ферментов МОС приводит к замедлению процессов биотрансформации и детоксикации, еще больше усугубляя нарушенный гомеостаз в организме.

Цель нашей работы – изучение особенностей изменения детоксицирующей системы печени крыс при ингаляционном воздействии некоторых ксенобиотиков.

МЕТОДИКА

Исследования проведены на 336 половозрелых крысах обоего пола, содержавшихся на обычном лабораторном рационе. Ингаляционную затравку аммиаком, фенолом, формальдегидом, ацетатом свинца, диоксидом серы или их комбинацией проводили 24 ч в

сутки течение 3 мес. Концентрации использованных соединений представлены в табл. 1. За две недели до начала эксперимента животные помещались в 200-литровые затравочные камеры, предложенные проф. Курляндским (НИИ гигиены и профзаболеваний АМН СССР) для работы с паробразными, газообразными и пылеобразными веществами с целью адаптации крыс к новым условиям содержания и получения исходных показателей. Скорость подачи воздуха в камеры составляла 40 л/мин. Контрольную группу животных также содержали в специальных камерах с вентиляцией обычным воздухом при 22–24°C. В конце эксперимента детоксицирующую функцию печени оценивали по продолжительности снотворного действия гексенала, который вводили подкожно внутрибрюшинно в дозе 70 мг/кг. Результаты обработаны методом вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что продолжительность гексеналового сна у самцов и самок неодинаковая (табл.2). У самок она увеличилась на 47,2 % ($P < 0,05$).

У самцов при интоксикации аммиаком, фенолом и формальдегидом продолжительность гексеналового сна увеличилась достоверно на 69,8, 161,0 и 161,4 % соответственно. В то же время при интоксика-

ции ацетатом свинца и двуокисью серы мы наблюдали лишь тенденцию к удлинению. Неожиданным было то, что комбинированное воздействие этих соединений не только не удлиняло сон, но даже была отмечена тенденция к его укорочению.

Отличия проявлялись и в реакции монооксигеназной системы печени самок в ответ на введение токсинов. Так, если при интоксикации аммиаком и двуокисью серы продолжительность сна существенно не изменилась, то при ингаляции фенолом данный показатель увеличился достоверно на 52,3 %, а при применении ацетата свинца и формальдегида мы наблюдали укорочение гексеналового сна на 63,2 и 38,7 %. При комбинации этих соединений также было отмечено укорочение сна.

Согласно данным литературы [5], активность НАДФН-зависимой МОС печени крыс достоверно выше у самцов, чем у самок. Половые различия выявлены и в субстратиндуцированных спектрах микросом печени, в частности активность амидопирин-N-деметилазы и гексобарбитал-гидроксилазы почти в 3 раза выше у самцов, чем у самок. Видимо, в связи с этим продолжительность гексеналового сна у самок была большей.

Вместе с тем половые различия активности МОС печени крыс зависят не только от количественного, но и качественного состава изоформ пула цитохрома P-450. Приведенные в статье факты половых различий

Таблица 1. Концентрации токсических веществ в камере при хроническом круглосуточном ингаляционном воздействии (мг/м³)

Название соединения	При раздельном введении		При комбинированном введении	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Аммиак (NH ₃)	1,90±0,09	2,03±0,06	0,43±0,08	0,45±0,07
Ацетат свинца (CH ₃ COOPb)	0,11±0,01	0,098±0,007	0,003±0,0004	0,0032±0,0005
Диоксид серы (SO ₂)	5,23±0,17	5,32±0,15	0,51±0,01	0,50±0,01
Фенол (C ₆ H ₆ O)	0,098±0,002	0,09±0,003	0,035±0,005	0,036±0,006
Формальдегид (CH ₂ O)	0,37±0,01	0,34±0,01	0,031±0,003	0,033±0,003

Таблица 2. Продолжительность гексеналового сна крыс при интоксикации ксенобиотиками ($M \pm m$)

Экспериментальные группы	Продолжительность гексеналового сна, мин	
	Самцы	Самки
Контроль	26,32±2,44	38,74±2,74**
Аммиак (NH ₃)	44,72±3,33*	34,33±3,12
Ацетат свинца (CH ₃ COOPb)	68,78±5,32*	59,07±4,81*
Диоксид серы (SO ₂)	68,86±5,45*	14,08±1,23***
Фенол (C ₆ H ₆ O)	30,06±2,26	22,34±2,25***
Формальдегид (CH ₂ O)	33,07±2,71	35,04±2,81*
Комбинация соединений	22,30±2,13	27,04±3,16

* различия между интактной и опытной группами достоверны ($P < 0,05$); ** различия между показателями самцов и самок крыс достоверны ($P < 0,05$).

в биотрансформации эндо- и ксенобиотиков, зависящие от функционального состояния МОС, могут быть обусловлены существованием половоспецифических изоформ цитохрома P-450. Так, установлено, что специфичными для крыс-самцов являются изоформы цитохрома P-450 ПС11, ПА2, ПА2, ПС13, ПС22; уровни их активности в 10–20 раз выше, чем у самок. У самцов доминантные изоформы ПВ1, ПВ2, ПА1, активность которых в 2–10 раз выше, чем у самок. Специфичной для самок является изоформа ПС12 (активность в 20 раз выше, чем у самцов), доминантными – ПА1, ПС7, ПЕ1 и IA2 (в 1,5–2 раза выше по сравнению с результатами у самцов) [15].

Следует указать также, что экспрессия секс-специфических изоформ цитохрома P-450 зависит и от их гормональной регуляции, в частности от гормонов системы гипоталамус – гипофиз и щитовидной железы. Тиреоидный гормон является одним из основных регуляторов стероид-гидроксилазной активности цитохрома P-450 печени. Он оказывает прямое действие на претрансляционном уровне на модуляцию экспрессии половоспецифических изоформ P-450 и не прямое действие – на стимуляцию секреции гормона роста гипофиза [16]. В гормональной регуляции половоспецифических изоформ цитохрома P-450 именно

гормон роста контролирует половоспецифическую экспрессию генов половых гормонов на уровне инициации транскрипции [17,18]. По мнению некоторых авторов [5] это может быть связано с различной степенью андрогенной зависимости величины спектральных изменений изоформ цитохрома P-450 у крыс.

Выявленная нами разница в чувствительности самок и самцов, видимо, обусловлена половой дифференцировкой функций печени в метаболизме экзо-и эндобиотиков [12]. Полученные результаты согласуются с данными литературы [5], где описывается высокая токсичность хлороформа для самцов и отсутствие эффекта для самок. Вместе с тем среди крыс одного пола также были выявлены различия в действии токсикантов на детоксицирующую функцию печени в условиях *in vivo*.

На наш взгляд, умеренное удлинение продолжительности гексеналового сна при интоксикации аммиаком свидетельствует о снижении фармако-метаболизирующей функции печени, видимо, вследствие развивающегося гепатоза у самцов, тогда как у самок особых различий не выявлено. Возможно, большая токсичность данного соединения и возможность ее кумуляции приводят к ингибированию МОС при более длительном его введении. В то же время

фенол и формальдегид обладали выраженной гепатотоксичностью и способностью повреждать мембрану эндоплазматического ретикулума, что, видимо, и обусловливало выраженное удлинение продолжительности сна. При раздельном и комбинированном воздействии малых концентраций фенола и формальдегида в течение длительного времени было отмечено [11] достоверное повышение активности холинэстеразы, оксидазы, АсАТ, снижение концентрации нуклеиновых кислот и белка в сыворотке крови, снижение активности этих ферментов в гомогенатах печени. Согласно данным литературы [7] фенол избирательно накапливается в печени, оказывая мембраноповреждающее действие и ингибируя активность мембраносвязанных ферментов, вследствие интенсификации свободнорадикальных процессов. В отличие от них более 90 % диоксида серы при ингаляционном поступлении всасывается в верхних дыхательных путях в основном гладкими мышцами альвеол [3]. Он в меньшей мере метаболизируется МОС печени и поэтому его гепатотоксичность менее выражена, что мы и наблюдали в своих опытах. Анализируя действие ацетата свинца, надо отметить, что он оказывает большее влияние на эритроциты и клетки костного мозга, нарушая тем самым синтез гема в ретикулоцитах [1].

Среди исследованных соединений лишь при введении фенола достоверно увеличивалась продолжительность гексеналового сна у самок. В механизме фенола, как было отмечено ранее, лежит его влияние на мембрану эндоплазматического ретикулума.

Следует отметить, что комбинация этих соединений приводила к некоторому укорочению продолжительности гексеналового сна у самцов и самок, что было, на наш взгляд, связано с индукцией МОС гепатоцитов вследствие повышенной нагрузки на организм. С другой стороны, комбинация этих соединений может оказывать не-

которое антагонистическое действие, что определяет уменьшение гепатотоксичности вышеуказанных соединений. Причем это проявлялось как у самцов, так и у самок.

ВЫВОДЫ

1. Ингаляционная затравка малыми дозами аммиака, фенола, формальдегида в течение 3 мес приводит к замедлению биотрансформации гексенала у самцов. Ацетат свинца и диоксид серы в меньшей мере влияли на изучаемый показатель.

2. Хроническое ингаляционное воздействие фенолом замедляет биотрансформацию гексенала у самок. Аммиак не оказывает влияния на самок, тогда как формальдегид, ацетат свинца и диоксид серы ускоряют биотрансформацию гексенала.

3. Половые различия качественного и количественного состава изоформ цитохрома Р-450 и особенности гормональной регуляции МОС могут определять более выраженную гепатотоксичность изученных нами соединений у самцов, тогда как меньшая индуцибельность МОС у самок – более слабую гепатотоксичность.

F. Sh. Inoyatov

SEXUAL FEATURES OF EFFECTS OF AEROGEN TOXICANTS ON REVERSING TOXICITY FUNCTION OF THE LIVER IN RATS

Inhalant poisoning with low doses of toxicants during 3 months resulted in slowing the biotransformation of hexenal in male rats, whereas lead acetate and sulphur dioxide were less active. Unlike the male rats, phenol in female ones prolonged hexenal-induced dream. Ammonia did not effect the biotransformation, whereas formaldehyde, lead acetate and sulphur dioxide accelerated it. Sex-linked dimorphism of MOS has been suggested to determine more pronounced hepatotoxicity of the compounds under exploration in male rats.

The second medical Institute, Tashkent, Republic of Uzbekistan

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.

2. Арчаков А.И., Карузина И.И. Окисление чужеродных соединений и проблемы токсикологии // Вестн. РАМН СССР. – 1988. – №1. – С.14 – 18.
3. Бертрам Г. Катцунг. Базисная и клиническая фармакология. – М.: Бином, 1998. – Т.2. – Раздел IX. – С.487 – 528.
4. Жолдакова З.И., Харчевникова Н.В. Прогноз опасности химических веществ по зависимости структура – активность с учетом биотрансформации // Гигиена и санитария. – 2000. – №1. – С.25 – 29.
5. Каримов Х.Я., Карабанович А.К., Хакимов З.З. Патфизиологические аспекты монооксигеназной системы. – Ташкент, 1994. – 212 с.
6. Ковалев И.Е., Шипулина Н.В. Ковалентное связывание ксенобиотиков с белками организма как механизм адаптации // Хим.-фарм. журн. – 1996. – №11. – С.3 – 8.
7. Меркулов А.И., Скворцова Р.И. О токсическом действии фенола // Гигиена и санитария. – 1984. – №1. – С.79 – 80.
8. Нагорный П.А. К токсичности фенола при ингаляционном поступлении. – В кн.: Материалы XIV науч. сессии по вопросам гигиены труда и профпатологии в сланцевой промышленности. – Кохтла – Ярве, 1977. – С.40 – 43.
9. Нагорный П.А. О комбинированном действии фенола и формальдегида при остром ингаляционном отравлении // Фармакология и токсикология. – 1978. – Вып.13. – С.82 – 86.
10. Национальный план действий по гигиене окружающей среды Республики Узбекистан. – Ташкент, 1999. – 129 с.
11. Подъячева Н.А. Общетокическое действие малых концентраций фенола и формальдегида при раздельном и комбинированном воздействии на организм подопытных животных. – В кн.: Гигиенические аспекты охраны здоровья населения. – М., 1977. – С.131.
12. Розен В.Б., Матарадзе Г.Д., Смирнова О.В., Смирнов А.Н. Половая дифференцировка функций печени. – М.: Медицина, 1991. – 336 с.
13. Шешунов И.В., Гильмиярова Ф.Н., Гергель Н.И. и др. Зависимость заболеваемости населения от специфических промышленных выбросов // Гигиена и санитария. – 1999. – №3. – С.5 – 9.
14. Экологическое районирование территории Республики Узбекистан / Под руководством А.Ш. Хабибуллаева. – Ташкент, 1998. – 72 с.
15. Kato R., Yamazol Y. Sex-specific cytochrome P-450 as a cause of sex – and species-regulated differences in drug toxicity // Toxicol. Lett. – 1992. – 64, 65. – P.661 – 667.
16. Vind C., Dich J., Grunnet N. Hormonal regulation of the sex-specific testosterone metabolism in cultured rat hepatocytes // J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol. – 1992. – 3. – P.158.
17. Waxman D.J., Rat R.A., Zhao S. et al. Interaction of hepatic cytochrome P-450 with steroid hormones. Regioselectivity and stereospecificity of steroid metabolism and hormonal regulation of rat P-450 enzyme expression // Biochem. Pharmacol. – 1988. – 37. – P.71 – 84.
18. Waxman D.J., Rat R.A., Zhao S. et al. Regulation of P-450-dependent hepatic steroid hydroxylation by drowth hormone and thyroxine // J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol. – 1992. – 3. – P.50 – 51.

*Второй мед. ин-т, Ташкент,
Республика Узбекистан*

*Материал поступил
в редакцию 2.07.2002*