

АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ У БІЛИХ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ ХРОНІЧНОЇ ІНГАЛЯЦІЙНОЇ ІЗОЛЬОВАНОЇ ТА СПОЛУЧЕНОЇ ДІЇ ОКСИДІВ АЗОТУ, СІРКИ І КРЕМНІЮ

В.Д. Крушевський, к. біол. н.

Український НДІ промислової медицини, м. Кривий Ріг.

РЕЗЮМЕ. При дії на організм шкідливих речовин утворюються токсичні сполуки вільних радикалів, у тому числі пероксид водню, для нейтралізації якого найважливішу роль відіграє каталаза. Тому метою даних досліджень було визначення активності каталази в організмі білих щурів у динаміці хронічної інгаляційної ізолюваної та сполученої дії одних з найпоширеніших антропогенних ксенобіотиків: оксидів азоту, сірки та кремнію. В експерименті на 600 нелінійних білих щурах з початковою масою 120-130 г 3-ї категорії якості були визначені закономірності активації та дезактивації каталази у різних біосубстратах дослідних тварин в залежності від якісних та дозо — експозиційних властивостей цих подразнюючих чинників.

Ключові слова: хронічна інгаляція, сполучна дія, оксиди азоту, оксиди сірки, оксиди кремнію, активність каталази.

РЕЗЮМЕ. При действии на организм вредных веществ образуются токсичные соединения свободных радикалов, в том числе пероксид водорода, для нейтрализации которого наибольшую роль играет каталаза. Поэтому целью данных исследований было определение активности каталазы в организме белых крыс в динамике хронического ингаляционного изолированного и сочетанного действия одних из наиболее распространенных антропогенных ксенобіотиков: оксидов азота, серы и кремния. В эксперименте на 600 нелинейных белых крысах с начальной массой 120-130 г 3-й категории качества были определены закономерности активации и дезактивации каталазы в разных биосубстратах опытных животных в зависимости от качественных и дозо-экспозиционных свойств этих раздражающих факторов.

Ключевые слова: хроническая ингаляция, сочетанное действие, оксиды азота, оксиды серы, оксиды кремния, активность каталазы.

SUMMARY. It is determined that toxic compounds of free radicals (including hydrogen peroxide) are formed under the exposure of harmful substances. Catalase is of a great importance for neutralization of hydrogen peroxide. So the aim of this study was to evaluate the catalase activity in white rats in the dynamics of the isolated and joined chronic inhalation with some of the most common man-made xenobiotics — nitrogen, sulfur and silicon oxides. In the experiment on 600 non-linear white rats with initial mass 120-130 grams the patterns of catalase activation and deactivation in different biosubstrates of rats depending on quality and dose-exposure properties of the above mentioned irritating factors were identified.

Key word: hydrogen peroxide, catalase, chronic inhalation, nitrogen, sulfur, silicon oxides.

При дії на організм шкідливих речовин утворюються токсичні сполуки вільних радикалів, у тому числі пероксид водню, для нейтралізації якого найважливішу роль відіграє каталаза [1].

Вона локалізується переважно в пероксисомах [2] і забезпечує перебіг двох реакцій: ефективно розщеплює надлишок пероксиду водню в каталазній реакції або окислює в присутності пероксидів ряд токсичних сполук у пероксидазній реакції. Каталаза — один з перших ферментів, одержаних у чистому вигляді, але механізм її дії ще до кінця не з'ясований, а дані різних авторів відносно її каталітичних властивостей достатньо суперечливі [3].

Функціональні антиоксидантні особливості каталази, її поширення в біологічних об'єктах — причина прискіпливої уваги дослідників до даного ферменту [1]. Тому все частіше проводяться дослідження активності каталази при дії на організм шкідливих факторів як природного, так і антропогенного походження, що викликають в організмі патологічні процеси відповідної етіології [4,5].

Метою наших досліджень було визначення активності каталази в організмі білих щурів у динаміці хронічної інгаляційної ізолюваної та сполученій дії найбільш поширених антропогенних ксенобіотиків: оксидів азоту, сірки та кремнію.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проводилися в умовах, які відтворювалися згідно з діючими нормативними документами і визначеними у відповідних роботах [6-9].

Дослідження проводилися на 600 нелінійних білих щурах з початковою масою 120-130 г 3-ї категорії якості.

Тварини підлягали щоденним чотиригодинним хронічним інгаляційним ізолюваним і комбінованим діям оксидів азоту, сірчистого ангідриду (5 ГДК) та діоксиду кремнію різної дисперсності (15-20 ГДК), що викликали морфологічно визначений хронічний токсичний, пиловий та токсико-пиловий бронхіт [7].

1 серію піддослідних тварин піддавали інгаляційній дії оксидів азоту, 2 серію — сірчистого ангідри-

ду, 3 серію — аморфного діоксиду кремнію, 4 серію — грубодисперсного діоксиду кремнію, 5 серію — аморфного діоксиду кремнію з оксидами азоту, 6 серію — аморфного діоксиду кремнію з сірчистим ангідридом.

Щурів виводили з експерименту декапітацією під легким ефірним наркозом після закінчення 2, 5, 7, 9 і 12 тижневих інгаляційних експозицій, дотримуючись біоетичних правил гуманного поводження з тваринами.

Бронхітогенні гази одержували хімічними реакціями [6-7] і подавали в експериментальну камеру за допомогою барботації. Контроль за концентрацією оксидів азоту і сірки у камері здійснювався фотометрично через кожні 30 хвилин [8,9].

Вибір та обґрунтування обраних для дослідження антропогенних ксенобіотиків наведені в роботах [6,7].

Біосубстрати сироватки крові, легень та селезінки готували по [10].

Результати та їх обговорювання

При дво — і п'ятиденній експозиції в активності каталази сиро-

ватки крові достовірних змін не виявлено, наголошується лише на незначному її збільшенні. На сьомому тижні досліду активність каталази достовірно виросла в 1,2 — 1,3 раза по відношенню до контрольних величин у всіх тварин, що зазнали ізольованої дії оксидів азоту і сірки та сполученої їхньої дії з аморфним гідрофобним діоксидом кремнію (табл. 1).

Ізольована дія діоксиду кремнію

редньому у 1,2 раза в усіх дослідних серіях, окрім тварин, які підлягали ізольованій дії діоксиду кремнію різної дисперсності, де цей показник статистично невірогідний.

Активність каталази в легенях білих щурів всіх дослідних серій в динаміці інгаляційної дії подразнюючих чинників характеризується, перш за все, тим, що до дев'ятижневої експозиції вона збільшується

1 мг білка в шостій серії тварин до 35,6 — в першій серії.

При 9-тижневій експозиції рівень активності каталази в легенях дослідних тварин усіх серій залишається без змін, тобто середня кратність до контролю становить 16,2. Найбільшим збільшенням активності каталази тут вирізняються тварини, які зазнали ізольованої дії оксидів азоту і сірки, а також в

Таблиця 1

Активність каталази сироватки крові білих щурів у динаміці інгаляційної дії подразнюючих чинників (мккатал на 1 мг білка)

| Терміни досліду (тижні) | Подразнюючі фактори /№ серії | | | | | |
|---|------------------------------|-----------------|--------------------|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | NO _x | SO ₂ | SiO _{2ам} | SiO _{2 гр.д.} | SiO _{2ам} +NO _x | SiO _{2ам} +SO ₂ |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Контроль 2 Дослід n _к /n _д | 14,3±1,44 | 14,1±0,88 | 11,5±0,35 | 11,5±0,35 | 12,3±0,92 | 12,1±1,12 |
| | 13,8±0,81 | 12,9±1,27 | 13,0±0,81 | 12,0±1,02 | 12,6±0,73 | 12,4±0,95 |
| | 10/11 | 9/10 | 10/10 | 10/10 | 8/10 | 10/9 |
| Контроль 5 Дослід n _к /n _д | 14,8±1,54 | 15,1±1,08 | 13,5±1,35 | 12,5±1,35 | 12,2±1,92 | 12,1±1,12 |
| | 16,8±0,94 | 17,9±1,17 | 16,3±1,56 | 14,9±1,02 | 15,6±1,73 | 15,3±1,95 |
| | 10/10 | 10/9 | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 7 Дослід n _к /n _д | 13,3±0,23 | 13,2±0,51 | 13,7±0,78 | 13,9±0,66 | 13,3±0,69 | 13,5±0,42 |
| | 16,9±0,71* | 17,5±0,63* | 15,6±1,66 | 15,8±1,75 | 15,3±0,55* | 15,6±0,72* |
| | 9/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 9 Дослід n _к /n _д | 13,5±1,27 | 13,4±1,66 | 13,9±1,71 | 14,2±1,41 | 14,8±1,54 | 13,7±1,83 |
| | 26,1±3,81* | 25,7±3,73* | 23,6±3,79* | 24,1±3,78* | 27,4±3,71* | 26,6±3,80* |
| | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 12 Дослід n _к /n _д | 13,8±1,16 | 14,7±1,53 | 14,9±1,66 | 14,4±1,78 | 14,6±1,61 | 14,4±1,59 |
| | 11,5±0,67* | 12,0±0,69* | 12,4±0,93 | 12,3±0,57 | 12,2±0,58* | 11,6±0,98* |
| | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/9 |

Примітки: 1. SiO_{2ам}. — аморфний; 2. SiO_{2 гр.д.}. — грубодисперсний (ММАД=50мкм); 3.* — різниця вірогідна щодо контролю, P< 0,05; 4. n_к/n_д — співвідношення кількості контрольних і дослідних спостережень.

різної дисперсності при цій експозиції не викликає статистично значущих змін в активності каталази сироватки крові. Найбільші зрушення щодо активності каталази сироватки крові відбуваються при дев'ятижневій експозиції, де цей показник збільшується в 1,7 — 1,9 раза відносно контролю.

При цьому найбільший негативний антиоксидантний ефект щодо активності каталази в сироватці крові мають сполучені дії оксидів азоту і сірки з аморфним гідрофобним діоксидом кремнію, де збільшення активності каталази згідно з контролем сягає 54,0%.

По закінченні експерименту (12 тижнів) активність каталази в крові тварин достовірно знижується відносно контрольного рівня в се-

що до контролю в середньому в 1,04 — 1,86 раза. Причому, при перших двох експозиціях це збільшення становило в середньому від 1,27 до 1,32 раза відносно контролю. Також мали місце показники більші за контрольні, а саме: 13,6 — 14,3 мккатал на 1 міліграм білка, але вони стали статистично недостовірні. Отже, спостерігалася також активізація цього ферменту на початкових етапах дії подразнюючих чинників (табл. 2).

Достовірні відмінності по збільшенню активності каталази в легенях дослідних тварин усіх серій щодо контролю починаються з сьомого тижня експерименту. При цій експозиції активність каталази збільшується в середньому в 1,68 раза, ніж у контрольних серіях тварин, різниця становить від 31,1 мккатал на

комплексі з аморфним діоксидом кремнію.

Після закінчення експерименту активність каталази в легенях різко знижується поза контрольні величини в середньому в 1,69 раза, що, можливо, свідчить про виснаження енергетичних властивостей цього ферменту.

Активність каталази в селезінці білих щурів всіх серій на початку інгаляційної дії подразнюючих чинників (2 тижні) пригнічується на 6,1 — 11,6%, потім через п'ять тижнів підвищується на 8,9 — 19,1% (табл. 3).

З сьомого тижня досліду і до його закінчення зміни в активності каталази селезінки статистично достовірні у тварин всіх серій.

Так, при семитижневій експозиції цей показник збільшується

Таблиця 2

Активність каталази в легенях білих щурів у динаміці інгаляційної дії подразнюючих чинників (мкатал на 1 мг білка)

| Терміни дослідів (тижні) | Подразнюючі фактори /№ серії | | | | | |
|---|------------------------------|-----------------|--------------------|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | NO _x | SO ₂ | SiO _{2ам} | SiO _{2 гр.д.} | SiO _{2ам} +NO _x | SiO _{2ам} +SO ₂ |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Контроль 2 Дослід n _к /n _д | 52,5±9,2 | 35,4±4,9 | 43,5±6,5 | 41,4±7,5 | 42,3±5,9 | 52,1±8,2 |
| | 63,8±10,8 | 52,9±9,7 | 63,0±10,8 | 62,0±10,2 | 52,6±9,7 | 54,4±0,9 |
| | 10/11 | 9/10 | 10/10 | 10/10 | 8/10 | 10/9 |
| Контроль 5 Дослід n _к /n _д | 54,8±10,5 | 65,1±9,8 | 53,5±7,5 | 42,5±6,6 | 57,3±11,9 | 48,1±10,2 |
| | 66,8±11,9 | 77,9±12,7 | 66,3±9,6 | 54,9±7,2 | 75,6±10,7 | 65,3±9,9 |
| | 10/10 | 10/9 | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 7 Дослід n _к /n _д | 41,3±7,3 | 52,2±8,5 | 50,3±6,7 | 53,9±9,6 | 42,1±10,6 | 44,5±9,4 |
| | 76,9±8,7* | 87,5±12,6* | 75,6±9,6* | 85,8±10,7* | 75,3±8,5* | 75,6±9,7* |
| | 9/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 9 Дослід n _к /n _д | 44,5±8,7 | 43,4±10,6 | 55,9±8,7 | 44,2±7,4 | 50,8±9,5 | 43,7±8,8 |
| | 76,1±9,8* | 75,7±8,7* | 81,6±7,7* | 70,1±8,8* | 77,4±8,1* | 74,6±9,8* |
| | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 12 Дослід n _к /n _д | 53,8±9,1 | 54,7±8,5 | 55,1±8,6 | 50,4±6,7 | 54,6±7,6 | 54,1±8,9 |
| | 31,5±4,6* | 32,0±3,9* | 32,4±3,3* | 32,8±4,5* | 31,2±3,8* | 31,6±3,9* |
| | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/9 |

Примітки: див. у табл. 1.

Таблиця 3

Активність каталази в селезінці білих щурів у динаміці інгаляційної дії подразнюючих чинників (мкатал на 1 мг білка)

| Терміни дослідів (тижні) | Подразнюючі фактори /№ серії | | | | | |
|---|------------------------------|-----------------|--------------------|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | NO _x | SO ₂ | SiO _{2ам} | SiO _{2 гр.д.} | SiO _{2ам} +NO _x | SiO _{2ам} +SO ₂ |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Контроль 2 Дослід n _к /n _д | 14,8±1,34 | 14,6±0,88 | 13,5±0,35 | 12,5±0,37 | 12,3±0,92 | 12,1±1,14 |
| | 13,9±0,88 | 12,9±1,37 | 12,0±0,84 | 11,2±1,05 | 11,6±0,73 | 11,4±0,95 |
| | 10/11 | 9/10 | 10/10 | 10/10 | 8/10 | 10/9 |
| Контроль 5 Дослід n _к /n _д | 14,3±1,54 | 15,4±1,09 | 14,5±1,25 | 12,7±1,31 | 12,3±1,82 | 12,4±1,12 |
| | 16,2±0,91 | 16,9±1,12 | 16,6±1,57 | 14,3±1,05 | 15,2±1,93 | 15,3±1,95 |
| | 10/10 | 10/9 | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 7 Дослід n _к /n _д | 13,9±0,25 | 14,2±0,50 | 12,9±0,98 | 12,8±0,67 | 13,3±0,69 | 13,5±0,42 |
| | 16,7±0,73* | 17,9±0,63* | 15,9±0,67* | 15,9±0,65* | 15,3±0,55* | 15,6±0,72* |
| | 9/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 9 Дослід n _к /n _д | 13,7±1,21 | 14,4±1,66 | 13,8±1,75 | 14,1±1,40 | 14,8±1,34 | 14,7±1,93 |
| | 16,9±0,81* | 23,7±2,73* | 22,6±3,29* | 23,1±3,58* | 25,4±3,61* | 26,1±3,87* |
| | 10/10 | 10/10 | 10/9 | 10/10 | 10/9 | 10/10 |
| Контроль 12 Дослід n _к /n _д | 13,9±1,16 | 14,3±1,21 | 14,7±1,65 | 14,2±1,98 | 14,9±1,51 | 14,8±1,39 |
| | 10,6±0,67* | 11,1±0,63* | 11,6±0,91 | 12,4±0,59 | 11,2±0,53* | 11,3±0,78* |
| | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/10 | 10/9 |

Примітки: див. у табл. 1.

щодо контролю на 12,0 — 20,7%, а на дев'ятому тижні досліджу — на 18,9 — 43,7%. На сьомому тижні досліджу найбільше збільшення активності каталази відбувається у тварин першої і другої серій (у 1,20 — 1,26 раза відповідно), в шостій — в 1,16 раза, четвертій і п'ятій — в 1,15 раза і в третій — в 1,14 раза, в середньому для всіх серій це збільшення становить 1,18 раза. Отже, при цій експозиції найбільший стимулюючий ефект активності каталази в селезінці мають оксиди азоту і сірки при їх ізольованій дії.

При дев'яти тижневій експозиції спостерігається подальше зростання активності каталази в селезінці всіх дослідних тварин щодо контролю і в середньому цей коефіцієнт складає 1,61, тобто зростає на 26,7% щодо попередньої експозиції.

По закінченні експерименту активність каталази в селезінці статистично достовірно знизилася у тварин 1, 2, 5 і 6 серій. Найбільше зниження цього показника у тварин п'ятої серії 24,8%, потім в шостій — 23,6%, першій і другій — 22,4%. У тварин третьої і четвертої серії також спостерігається зниження активності каталази селезінки щодо контролю на 21,1 — 12,7% відповідно, але ці зміни статистично не достовірні. В середньому зниження цього показника по всіх серіях до закінчення досліджу становить 21,2%.

Майже в усіх дослідних серіях тварин відбуваються статистично вірогідні однонаправлені зміни активності каталази як в сироватці крові, так і легенях, селезінці після семитижневої експозиції при ізольованій та сполученій дії подразнюючих чинників (рис.).

Так, в сироватці крові середній показник активації каталази відносно контролю за цієї експозиції становить 16,1%, в легенях — 40,4%, а в селезінці — 17,3%; при 9-ти тижневій експозиції — відповідно: 46,5%, 37,9% і 38,3%; по закінченні експерименту (12 тижнів) спостерігається дезактивація ферменту в крові на 17,2%, в легенях — на

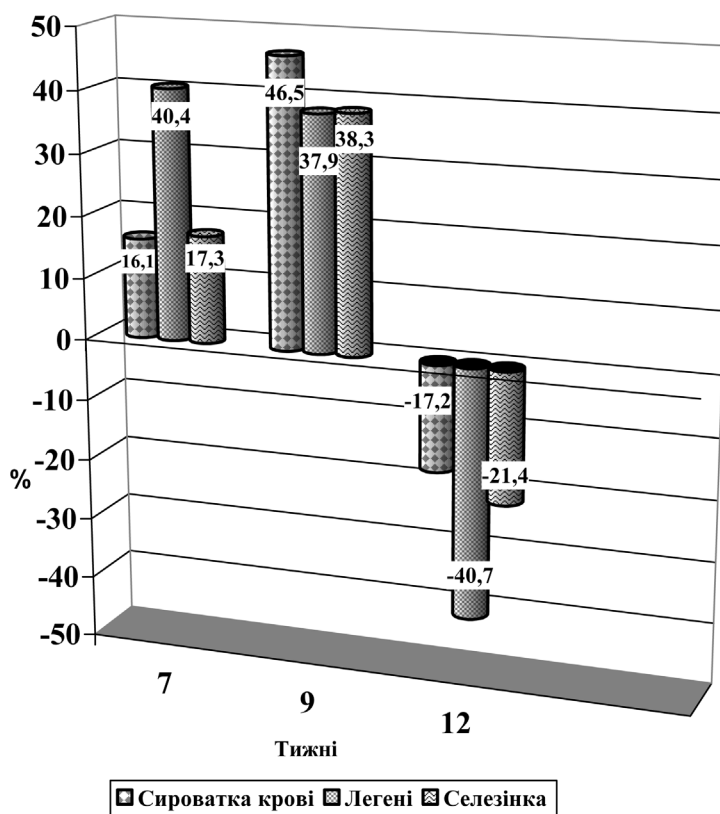


Рис. Співвідношення активності каталази в сироватці крові, легенях та селезінці після семи — дев'яти тижневої інгаляційної експозиції подразнюючими чинниками відносно контролю

40,7%, в селезінці — на 21,4%.

Отже, найбільша активізація каталази відбувається на сьомому — і дев'ятому тижні експерименту при ізольованій та сполученій дії практично всіх досліджених подразнюючих чинників. У подальшому активність каталази значно знижується в усіх досліджених біосубстратах в 1,2 — 1,7 раза.

Висновки

1. Хронічна інгаляційна дія подразнюючих чинників оксидів азоту, сірки та кремнію на білих щурів як при ізольованому їх впливові, так і сполученому викликає активацію каталази сироватки крові, легень і селезінки до дев'ятого тижня експерименту в середньому на 41% відносно контролю.
2. У подальшому відбувається дезактивація ферменту в усіх досліджених біосубстратах і на дванадцятому тижні експерименту вона сягає в середньому 26,4%, що свідчить про виснаження каталази або часткове руйнування її молекули.

менту вона сягає в середньому 26,4%, що свідчить про виснаження каталази або часткове руйнування її молекули.

3. У сироватці крові середній показник підвищення активації каталази відносно контролю при семитижневій експозиції становить 16,1%, в легенях — 40,4%, а в селезінці — 17,3%; при 9-ти тижневій експозиції — відповідно: 46,5%, 37,9% і 38,3%; до кінця експерименту (12 тижнів) спостерігається дезактивація ферменту в крові на 17,2%, в легенях — на 40,7%, в селезінці — на 21,4%.
4. Найбільше збільшення активності каталази відбувається на сьомому тижні досліджу в легенях як первинній мішені дії подразнюючих чинників і відповідне найбільше виснаження її після закінчення експерименту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Латышко Н. В. Кинетические и каталитические свойства каталазы *Penicillium vitale* / Н.В. Латышко, Л.В. Гудкова // Украинский биохимический журнал. — 1996. — т. 68. — №2. — С.69-73.
2. Mannervik B. Glutathione peroxidase / B. Mannervik // Methods in enzymology. Acad. Press. — 1985. — Vol.113. — P. 490-495.
3. Jacob G. S. Catalase of *Neurospora crassa*. L. Induction, purification and physical properties / G.S. Jacob, W.H. Orme-Johnson // Biochemistry. — 1979. — Vol.18. — №14. — P. 2967-2975.

4. Гребенюк А. Н. Влияние цистамина на состояние системы глутатиона / А.Н.Гребенюк, А.В. Удинцев // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1997. — т.37. — №6. — С. 905-909.
5. Барабой В.А. Биохимические механизмы приобретённой радиорезистентности опухолевой ткани / В.А. Барабой, Ю.Н. Белоконь, В.А. Зинченко // Украинский биохимический журнал. — 1997. — Т.69. — №3. — С.42-47.
6. Пат. 21538А. Україна, А61В 10/00. Спосіб моделювання хронічного токсико-пилового бронхіту / Карнаух М. Г., Крушевський В. Д., Луговський С. П., Беднарик О. М.; заявник і патентовласник Криворізький науково-дослідний інститут гігієни праці та профзахворювань. — №95010030; заявл. 02.01.95; опубл. 30.04.98, Бюл. №2.
7. Морфофункціональні зміни в легенях лабораторних тварин у патогенезі експериментального хронічного бронхіту токсичної та пилової етіології / М.Г. Карнаух, В.Д. Крушевський, С.П. Луговський [та ін.] // Гігієна населених місць. — 2003. — Вип. 41. — С.53-58.
8. Методические указания на фотометрическое определение двуокси азота в воздухе/№1638-77 Утверждены МЗ СССР/18 апреля — 1977г.
9. Методические указания на фотометрическое определение сернистого ангидрида /№ 1642-77 Утверждены МЗ СССР/13 апреля — 1977г.
10. Крушевський В. Д. Розміри циркулюючих імунних комплексів у білих щурів при хронічній інгаляційній дії на них оксидів азоту, сірки та кремнію / В.Д. Крушевський //Современные проблемы токсикологии. — 2004. — №2. — С. 33-35.

Надійшла до редакції: 26.08.2010