

и составляет 30 % общей дисперсии исходных признаков, объединенных первым фактором.

На основании экспериментальных исследований установлена регулирующая роль витаминов А, С, Е по снижению выхода хромосомных aberrаций в клетках костного мозга бедренных костей крыс можно сделать следующие выводы.

1. В эксперименте на животных (белые крысы) установлено мутагенное действие иона фтора.

2. Установлена регулирующая роль витаминов А, С, Е по снижению выхода хромосомных aberrаций в клетках костного мозга бедренных костей крыс.

К.Н.Хлус, Л.Е.Бойко, С.М.Толстюк, Л.Н.Хлус  
*НИИ медико-экологических проблем МЗ Украины*

### **Механизм токсического действия оксалатов как потенциальных факторов экологической агрессии – ингибирование ферментов энергетического метаболизма**

Большие масштабы производства и использования щавелевой кислоты и ее солей, принимая во внимание серьезные последствия оксалатных токсикозов, дают основание рассматривать их в качестве одного из важных неблагоприятных факторов, определяющий степень экологической агрессии [10]. Помимо влияния индустриальных оксалатов, люди подвергаются на протяжении жизни ежедневному воздействию высоких уровней щавелевой кислоты, содержащейся во многих обычных пищевых продуктах [8].

Несмотря на очевидную актуальность исследований механизмов токсического действия оксалат-аниона, многие аспекты этой проблемы, в частности, нарушение процессов энергетического метаболизма, остаются недостаточно изученными. Исходя из этого, целью данного исследования было выяснение особенностей влияния оксалатов на функциональное

состояние ферментов, играющих ключевую роль в поддержании гомеостаза животного организма.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах *in vivo* изучали влияние алюминия щавелекислого при однократном пероральном и многократном накожном воздействии на организм белых крыс массой 180-200 г. Определяли активность в плазме крови лактатгидрогеназы, щелочной фосфатазы, аспартат- и аланинаминотрансфераз, гамма-глутамилтранспептидазы, холинэстеразы [4]. Исследовали *in vitro* в гомогенатах внутренних органов белых крыс разного возраста ингибирование щавелевой кислотой ЛДГ, малатдегидрогеназы (МДГ) и малатдегидрогеназы декарбоксилирующей (НАДФ-МДГ) [5]. Белок определяли по [11]. Щавелевую кислоту вводили в реакционную среду за 5 минут до инициации реакции. Статистическую обработку данных осуществляли известными методами вариационной статистики.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При пероральном введении оксалата алюминия (доза 1000 мг) кг массы тела при DL 50=3798 мг/кг) активность ЩФ в плазме крови снижалась с  $4,4 \pm 0,1$  у контрольных животных до  $3,4 \pm 0,1$  мкмоль/мл·час у опытных, что согласуется с ранее продемонстрированным падением активности ЩФ в сыворотке крови собак после внутривенного введения щавелевой кислоты (16). Установлено, что необходимым компонентом ЩФ являются катионы  $Zn^{++}$ , а ионы  $Mg^{++}$  содействуют активации этого фермента (13). Поскольку оксалат образует с указанными ионами нерастворимые соли (растворимость в 100 г воды двухвалентных щавелевокислых цинка и магния составляет 0,00079 и 0,00855 г, соответственно [7], логично предположить, что именно вследствие преципитации ионов  $Zn^{++}$  и  $Mg^{++}$  происходит торможение активности ЩФ.

Падение активности ЛДГ в плазме крови установлено при многократном нанесении оксалата алюминия на кожу животных: при 10 аппликациях оно составило 20,7 % (контроль -  $19,12 \pm 1,56$ ; опыт -  $15,16 \pm 0,54$  мкмоль/мл·час; при 20 аппликациях - 31 %



(контроль -  $21,45 \pm 1,87$ ; опыт -  $14,79 \pm 1,23$  мкмоль/мл·час). В то же время отсутствие изменений активности остальных ферментов - индикаторов поражения ряда систем и органов - свидетельствовало об отсутствии выраженных нарушений последних. Вероятно, в данном случае имело место избирательное оксалатзависимое угнетение ЛДГ, причиной которого могли быть как преципитация обязательного компонента ЛДГ - катионов  $Zn^{++}$ , так и ингибирование фермента оксалат-анионом - структурным аналогом субстрата ЛДГ - пирувата.

Таблица 1

Активность ферментов в органах белых крыс,  
(нмоль/мг белка·мин),  $M \pm m$

Возраст Животно го, мес.	ОРГАН				
	Печень	Мышцы	Почки	Сердце	Мозг
			ЛДГ		
1,5	501,02±74,27	1307,5±140,	378,80±60,77	1146,4±69,27	692,18±15,5
6,0	682,59±26,01	0	500,85±10,73	1940,3±149,9	2
12,0	644,49±55,88	2316,4±148,	713,65±61,18	2055,3±27,16	649,76±126,
		3			1
		3105,7±246,	МДГ		620,27±22,0
	381,08±15,80	5	418,12±2,57	720,06±15,52	8
1,5	564,37±9,79		418,12±2,57	963,54±35,01	
6,0	634,99±23,41		718,28±2,25	1208,9±95,76	
12,0		395,56±114,			664,92±58,7
		0	НАДФ-МДГ		5
	41,30±5,36	327,86±55,9	48,90±4,78	56,41±9,47	691,08±35,5
1,5	123,80±20,19	7	36,69±6,79	—	5
6,0	95,75±5,04	464,01±64,5	63,07±10,11	36,20±13,50	926,90±87,5
12,0		1			1
		46,61±5,01			56,53±9,47
		33,35±6,81			36,31±3,21
		23,70±0,65			26,21±1,14

В экспериментах *in vitro* установлены выраженные онтогенетические изменения ферментативной активности (табл. 1), что, по-видимому, отражает осуществление адаптации организма к эндокринным факторам в процессе физиологического развития и различное соотношение активностей анаболизма и катаболизма в разных органах и тканях в молодом, зрелом и старческом возрастах. Активность ЛДГ была наибольшей в тканях скелетной мускулатуры, МДГ - в ткани сердца, НАДФ-МДГ - в ткани печени.

Таблица 2

Ингибирование (%) щавелевой кислотой лактатдегидрогеназы в различных органах и тканях белых крыс, ( $M \pm m$ )

Возраст животного, мес.	Концентрация ингибитора, мМ	Печень	Мышцы	Почки	Сердце	Мозг
1,5	0,1	—	14,40±1,2	—	14,60±2,30	24,60±4,60
	0,25	12,75±2,2	0	44,40±2,70	—	24,30±4,80
	5	15,90±9,2	0			
6,0	0,1	14,05±4,2	6,20±6,20	15,45±2,12	28,40±1,30	15,20±3,70
	0,25	6	13,00±3,5	40,70±15,1	48,90±4,20	49,80±14,8
	0,5	15,15±4,5	0	65,45±2,95	51,75±6,00	53,20±8,20
	1,0	7	31,10±7,8	—	—	—
		19,00±5,0	6			
12,0	0,1	10,75±0,0	1,70±0,50	13,55±3,98	22,30±6,70	30,20±0,20
	0,25	5	18,60±6,5	28,25±7,05	46,80±6,20	35,20±4,80
	0,5	19,20±5,2	0	62,05±2,65	66,90±2,90	59,20±9,20
	1,0	0	25,60±5,8	69,07±0,90	75,80±0,20	67,90±5,00
		27,55±5,8	0			
		5	41,90±3,6			
	52,60±4,1	0				
	0					



Возрастная динамика указанных процессов отражает видовые особенности метаболизма [3] и, как правило, отличается от таковых, продемонстрированных ранее в сыворотке крови [1].

Изучение ингибирующего действия щавелевой кислоты в отношении активности ЛДГ выявило его прямую дозозависимость (табл. 2). Наиболее сильное угнетение фермента наблюдалось в органах с преимущественно аэробным характером обмена веществ (почки, сердце, мозг); в тканях печени и скелетной мускулатуры с интенсивным анаэробным метаболизмом ингибирование было выражено слабее.

Таблица 3  
Ингибирование (%) щавелевой кислотой малатдегидрогеназы в различных органах и тканях белых крыс, ( $M \pm$ )

Возраст животного мес.	Концентрация ингибитора, мМ	Печень	Почки	Сердце
1,5	2,0	13,45±3,30	2,50±0,71	17,27±4,37
	2,5	—	—	—
6,0	2,0	13,37±2,70	2,04±0,03	—
	2,5	14,11±2,70	3,66±0,67	3,97±0,71
12,0	2,0	3,46±1,33	5,83±1,20	3,41±0,57
	2,5	5,53±2,69	7,86±0,79	2,72±0,59

Данный результат согласуется с представлением о дифференциальной чувствительности отдельных изоферментов ЛДГ (определяемой различиями в строении Н- и М- субъединиц) [9], спектр которых в различных органах и тканях значительно различается. По-видимому, вследствие низкой чувствительности фракций ЛДГ5 и ЛДГ4 ингибирование было наименее значительным в печени и скелетных мышцах, где доля указанных изоферментов в общей активности ЛДГ превышает 90 % [6]; преобладание чувствительных к оксалату фракций ЛДГ1 и ЛДГ2 в почках, миокарде и мозге предопределило высокую степень ингибирования ЛДГ, происходящей из этих органов.

Прямая зависимость действия оксалата на активность МДГ была выражена в гораздо меньшей степени, чем это было показано для ЛДГ (табл. 3). Установлено, что хотя оксалат и оказывает неконкурентное по отношению к малату ингибирование опосредованной малатдегидрогеназной челночной системы транспорта восстановительных эквивалентов [18], в природе существуют примеры индуцируемой оксалатом активации малатдегидрогеназы [14]. По-видимому, характер возникающего эффекта зависит от сочетанного действия нескольких факторов: 1) межтканевых различий общей активности МДГ; 2) различий в соотношении цитоплазматической и митохондриальной форм фермента; 3) различий свойств субъединиц димерных молекул указанных форм фермента [2]; 4) особенностей изоферментного спектра каждой из форм; 5) изменения характера взаимодействия эффектора с фермент-субстратным комплексом при изменении действующей концентрации первого.

Сведения об ингибирующих свойствах оксалата по отношению к НАДФ-МДГ крайне скудны, хотя для фермента из печениголубя было показано, что он подавляет активность фермента в концентрациях 0,75; 2,0; 3,0 и 6,0 мм, соответственно, на 56; 63; 72-77 и 93 % [15, 17]. Наши данные говорят о меньшей степени ингибирования НАДФ-МДГ при существенных межорганных различиях (табл. 4).

Известно, что НАДФ-МДГ ингибируется рядом других биологически важных метаболитов - лактатом, альфа-кетоглутаратом, цитратом, глутаматом, аспартатом, структура которых, как у оксалата, близка к структуре субстрата действия НАДФ-МДГ - малата [12]. Параметры этого ингибирования различаются как по характеру, так и по избирательности действия на цитоплазматические и митохондриальные изоферменты, спектр которых в разных тканях и субклеточных фракциях, а также каталитические, кинетические и физико-химические характеристики значительно варьируют. Например, в органах с высоким уровнем окислительных процессов (головной мозг, сердце) - митохондриальные [6]. Очевидно, указанные



обстоятельства существенны для проявления и оксала-индуцированного ингибирования.

Обращает на себя внимание определенная зависимость степени угнетения активности ферментов от возраста экспериментальных животных. Так, в печени при использовании равных концентраций щавелевой кислоты в процессе онтогенеза возрастало ингибирование ЛДГ и НАДФ-МДГ при снижении эффекта в отношении МДГ. В то же время данная зависимость для ферментов ткани почек носила противоположный характер.

Таблица 4

Ингибирование (%) щавелевой кислотой (концентрация 1 мМ) малатдегидрогеназы декарбоксилирующей в различных органах и тканях белых крыс, ( $M \pm m$ )

Возраст животного, мес.	Печень	Почки	Мышцы	Сердце	Мозг
1,5	15,91±15,91	13,90±1,90	42,04±5,02	21,11±9,35	20,56±13,45
6,0	21,31±11,31	11,11±11,11	26,12±9,47	—	18,77±8,77
12,0	30,75±13,25	7,70±7,70	11,93±8,09	7,15±7,15	53,05±1,51

В ряде предыдущих исследований продемонстрированы особенности возрастной динамики изоферментного спектра. В сыворотке крови человека доля ЛДГ5 имеет наивысшие значения в детском и пожилом возрасте; с возрастом увеличивается доля МДГ3 [1]. Наиболее типичные возрастные изменения соотношения изоферментов ЛДГ установлены в сердце и скелетных мышцах кроликов, а в печени их флуктуации незначительны [3]. Показано, что если в тканях головного мозга белых крыс НАДФ-МДГ преимущественно обнаруживается в цитозольной фракции, то в мозге взрослых животных более 60 % активности фермента сосредоточено в митохондриях [6].

Вероятно, во многом благодаря онтогенетическим изменениям качественного и количественного состава изученных ферментов происходят и соответствующие изменения степени их оксала-индуцированного ингибирования.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что неблагоприятное влияние оксалат-аниона на ключевые ферменты энергетического метаболизма посредством ингибирования их активности является важным биохимическим механизмом токсического действия оксалатов как потенциальных факторов экологической агрессии. Это ингибирование носит дозозависимый характер, а его степень определяется органическим происхождением ферментов, претерпевая закономерные онтогенетические изменения.

А.В.Смирнов, В.А.Назаренко, В.М.Николаев  
*Ульяновский педагогический университет,  
Ульяновский технический университет*

### **Гидробиологическая ситуация в реке Свияге в результате аварийного сброса неочищенных сточных вод**

В январе 1996 года в течении трех суток в реку Свиягу, являющуюся притоком Волги, были сброшены неочищенные хозяйственно-фекальные стоки. Причиной послужила авария на канализационно-насосной станции, принимающей на очистку бытовые стоки с самого густонаселенного района города Ульяновска, поэтому несложно предположить объем того количества стоков, которые попали в водоем. Естественно, заинтересовал не праздный вопрос: как все это повлияло на состояние живых систем и объектов реки. Весной-летом 1996 г. нами проводились гидробиологические исследования на водоеме. Одна из трудностей заключалась в том, что до последнего времени гидробиологический мониторинг Свияги не проводился (Смирнов, 1996).

Пожалуй, самое первое описание реки было произведено в 80-х годах XIX века сотрудниками Казанского университета при описании ихтиофауны. В течении 1916 года на реке существовала биологическая станция. В 1931 году В.Н.Сементовским было