

**РЕЗЕРВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛИЗОСОМАЛЬНОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ
СИСТЕМ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
ХЛОРИРОВАННЫМИ УГЛЕВОДОРОДАМИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭФФЕРЕНТНОЙ
ТЕРАПИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА**

**RESERVE CAPABILITIES OF THE LYSOSOMAL AND MITOCHONDRIAL
SYSTEMS OF HEPATOCYTES AT CHRONIC INTOXICATION BY CHLORINATED
HYDROCARBONS AND SORPTION-BASED METHODS OF TREATMENT
IN EXPERIMENTAL CONDITIONS**

В. Ю. Зиновкина¹, Т. Н. Глинская², А. Хаджюз³

V. Zinovkina¹, T. Glinskaya², Hadjuz Akil Nazir³

¹Научно-практический центр гигиены, г. Минск, Республика Беларусь

²Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий
г. Минск, Республика Беларусь

³Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь
zinovkina@mail.ru

Scientific Practical Centre of Hygiene, Minsk, Republic of Belarus

²National Center of Blood Transfusion and Medical Biotechnolog, Minsk, Republic of Belarus

³Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

На модели хронического токсического поражения печени, вызванного тетрахлорметаном, изучены резервные возможности лизосомальной и митохондриальной систем клеток печени с помощью дополнительной «ударной» нагрузки четыреххлористым углеродом. Дана оценка состояния резервных возможностей субклеточных структур на этапах хронического токсического поражения органа и эффективности влияния энтеросорбции.

Reserve capabilities of the lysosomal and mitochondrial systems of liver cells were studied on a model of chronic toxic liver damage caused by carbon tetrachloride using a test with an additional “shock” load of carbon tetrachloride. The reserve capacity of subcellular structures was assessed at the stages of chronic toxic organ damage and under the influence of enterosorption.

Ключевые слова: печень, лизосомы, митохондрии, моделирование, тетрахлорметан, энтеросорбция.

Keywords: liver, lysosomes, mitochondria, experimental modeling, carbon tetrachloride, enterosorption.

Экспериментальная биоэкология широко использует моделирование биологических процессов и явлений, связанных с воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды на живые организмы. Одной из распространенных «классических» экспериментальных моделей для целей биоэкологии, токсикологии и медицины является хроническая интоксикация четыреххлористым углеродом. Тетрахлорметан (хлорированный углеводород) является высоко кумулятивным, прежде всего, гепатотропным ядом. Яд также обладает способностью легко растворять жиры и, следовательно, имеет выраженный тропизм к нервной ткани, поражая центральную нервную систему. В антропогенной среде источником потенциального загрязнения этим токсикантом и озоноразрушающим веществом является химическая промышленность (производство хладонов, применение в качестве растворителя). С января 2019 г. вступила в силу Кигалийская поправка к Монреальскому протоколу. Поправка регулирует потребление «озоноразрушителей», включая гидрофторуглероды, и предусматривает ряд ограничительных мер, в том числе для нашей страны [1].

Несмотря на высокую токсичность, при воздействии относительно невысоких доз тетрахлорметана, происходит развитие хронической интоксикации, которая, в свою очередь, сопровождается возникновением адаптационных процессов, компенсаторно-приспособительных реакций. Процессы компенсации требуют ресурсного обеспечения, включая активацию генетического аппарата клеток поврежденных тканей и органов, усиления пластических процессов, как за счет направленной биodeградации молекул, являющихся в последующем сырьем для построения новых структур, так и за счет интенсивного синтеза. Такая потенциальная способность к мобилизации и последующему информационному и пластическому обеспечению компенсаторных реакций на фоне непрекращающегося действия токсического агента носит название «использование функциональных резервов». Данная способность проявляется на разных уровнях организации, включая молекулярный, субклеточный, тканевый. Очевидно, что резервные возможности любой биологической структуры ограничены. При их истощении наступает стадия декомпенсации, которая при сохранении инициальной причины повреждения заканчивается летальным исходом. С биоэкологической и токсикологической точки зрения интерес представляет возможность оценки

состояния функциональных резервов, в частности, степени их сохранности, реализации или истощения в условиях эксперимента. Получение подобной информации позволяет судить о давности и интенсивности интоксикации, о прогнозе течения патологического процесса, об объеме рекомендуемых мер по улучшению экологической ситуации и минимизации последствий токсического воздействия. В патогенезе повреждения органов-мишеней тетрахлорметаном важная роль принадлежит лизосомальной и митохондриальной системам клеток пораженного органа (ткани), в частности гепатоцитов. Яд повреждает мембраны вышеназванных органелл, индуцируя процессы перекисного окисления липидов, а также иницируя гистоновый механизм повреждения. Происходит значительная активация гидролаз, нарушение энергообеспечения, резкое снижение активности микросомальных ферментов, угнетение процессов детоксикации и синтеза. Учитывая крайне важную роль обеих систем субклеточных органелл в процессах повреждения и последующего участия в реакциях компенсации, представляется особенно значимым оценить резервные возможности лизосомальной и митохондриальной систем гепатоцитов как в процессе моделирования хронической интоксикации тетрахлорметаном, так и при корректирующем имеющиеся нарушениях воздействии – эфферентной терапии энтеросорбентом.

Моделирование хронической интоксикации четыреххлористым углеродом проводилось по стандартной методике беспородным крысам самцам с соблюдением правил работы с лабораторными животными. Для моделирования использовался 50 % масляный раствор тетрахлорметана в дозе 0,3 мл /100 г массы животного (2 раза в неделю). Длительность эксперимента составила 10 и 20 недель. Данные сроки соответствовали начальному периоду стадии компенсации (10 недель) и завершающему периоду стадии компенсации (20 недель).

Резервные возможности лизосомальной и митохондриальной систем печени оценивали после дополнительной («ударной») нагрузки этиотропным агентом (тетрахлорметан), проводимой интрагастрально зондовым методом за 2 часа до окончания эксперимента в дозе 1/3 полудетальной дозы ($ДП_{50}$).

Оценивались следующие параметры:

- неседиментируемая, доступная, общая активность четырех лизосомальных гидролаз (кислой рибонуклеазы; кислой дезоксирибонуклеазы; кислого катепсина Д; бета-Д-галактозидазы) и соотношение неседиментируемой к общей активности в ткани печени;

- показатели тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий печени, выявляемые методом полярографии (скорость дыхания в среде с субстратом окисления (сукцинат Na) – $V_{св}$; скорость фосфорилирующего окисления сукцината (после внесения АДФ) – V_3 ; скорость дыхания после фосфорилирования добавленного АДФ – V_4 ; дыхательный контроль Чанса – отношение V_3/V_4 ; дыхательный контроль Лорди – отношение $V_3/V_{св}$; коэффициент АДФ/0 – отношение количества вносимого в пробу АДФ к количеству кислорода, затраченного на его фосфорилирование; скорость фосфорилирования АДФ (произведение V_3 и коэффициента АДФ/0);

- активность дегидрогеназ цикла Кребса (сукцинатдегидрогеназы – свободная активность, малатдегидрогеназы – свободная и общая активность)

Изменение показателей оценивалось по отношению к донагрузочному уровню на той же стадии эксперимента. Контролем служили результаты нагрузочного теста у здоровых животных.

Эфферентная терапия проводилась зондовым методом интрагастрально. В качестве энтеросорбента использовался углеволокнистый сорбент ваулен (2,5 % водная взвесь), доза 1мл/100 г массы животного (25 мг/100 г массы животного). Курс энтеросорбции составлял 7 дней.

Основные результаты исследования изложены ниже.

Проведение теста с «ударной» нагрузкой гепатотропным ядом у здоровых животных приводило к значительному росту (двух- и трехкратному), прежде всего, неседиментируемой активности кислой рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы, катепсина Д в ткани печени: темп прироста показателя для катепсина Д составил 175,72 % ($p < 0,01$), кислой рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы соответственно 89,31 % ($p < 0,01$) и 39,64 % ($p < 0,05$). Общая активность гидролаз возрастала незначительно, что, в совокупности, приводило к заметному росту отношения неседиментируемой активности к общей активности и свидетельствовало о повышенной лабильности лизосомальных мембран гепатоцитов: темп прироста вышеназванного отношения к донагрузочному уровню составил 138,31% ($p < 0,01$) для катепсина Д; 70,87 % ($p < 0,05$) для кислой рибонуклеазы и 47,48 % ($p < 0,05$) для кислой дезоксирибонуклеазы. Все виды активности бета-Д-галактозидазы менялись незначительно (не демонстрировали статистически значимых изменений).

На 10-й неделе эксперимента проведение «ударной» нагрузки тетрахлорметаном сопровождалось признаками существенного роста резервных возможностей лизосомальной системы гепатоцитов, что проявлялось значимым приростом активности гидролаз по отношению к донагрузочному уровню. Особенно важным является прирост общей активности лизосомальных ферментов, косвенно свидетельствующий об активности синтетических процессов, при умеренных изменениях отношения неседиментируемой активности к общей активности, что, в свою очередь, является косвенным признаком относительной стабильности мембран лизосом. Темп прироста общей активности был особенно значим для катепсина Д, кислой рибонуклеазы и кислой дезоксирибонуклеазы (до 40,0–50,0 %, $p < 0,05$).

Оценка в те же сроки моделируемой патологии (10 недель) реакций со стороны изучаемых параметров митохондриальной системы демонстрировала достоверное снижение большинства показателей по отношению к донагрузочному уровню: скорость фосфорилирующего окисления сукцината (после внесения АДФ) – V_3 ; скорость

дыхания после фосфорилирования добавленного АДФ – V_4 ; дыхательный контроль Чанса – отношение V_3/V_4 ; дыхательный контроль Лорди – отношение $V_3/V_{св}$ снижались до 70,00–79,25 %, $p \leq 0,05$; скорость фосфорилирования упала до 65,00 % ($p < 0,05$) от донагрузочного уровня; общая активность малакдегидрогеназы в расчете на 1 мг белка составила 75,12 % ($p < 0,05$) донагрузочного уровня, общая активность малакдегидрогеназы в расчете 1 г массы ткани печени – упала до 64,87 % ($p < 0,05$); свободная активность малакдегидрогеназы в расчете 1 г массы ткани печени – 73,11 % ($p < 0,05$), свободная активность сукцинатдегидрогеназы в расчете 1 г массы ткани печени – 74,98 % ($p < 0,05$). По сравнению с реакцией здоровых животных на аналогичное воздействие показатели, характеризующие состояние митохондриальной системы, демонстрировали существенное снижение. Таким образом, неблагоприятная картина учитываемых показателей указывает на существенный энергетический дефицит, отмечающийся в ткани пораженного органа, несмотря на стадию устойчивой компенсации хронического токсического воздействия.

На 20-й неделе эксперимента тест с «ударной» нагрузкой демонстрировала признаки снижения резервных возможностей лизосомальной системы по результатам сравнительной оценки активности кислых нуклеаз и катепсина Д с донагрузочным уровнем. Важным является тот факт, что прироста общей активности перечисленных гидролаз не наблюдалось. Рост неседиментируемой активности тех же ферментов и сопряженный с этим рост отношения неседиментируемой активности к общей активности по сравнению с донагрузочным уровнем свидетельствует о начинающемся истощении резервных возможностей лизосомальной системы и, таким образом, является ранним предиктором наступающей декомпенсации, последующего снижения способности генетического аппарата гепатоцитов к генерации дополнительных количеств рибонуклеиновой кислоты, необходимых для синтетических процессов и пластического обеспечения компенсаторно-приспособительных реакций. Иную реакцию на тест демонстрирует изучение различных видов активности бета-Д-галактозидазы (значимый прирост общей активности, умеренный рост неседиментируемой активности, незначительное увеличение отношения неседиментируемой активности к общей активности). Такая реакция фермента является следствием активации процессов фиброгенеза и активным участием гидролазы в обменных и синтетических процессах соединительной ткани.

Оценка на 20-й неделе эксперимента состояния митохондриальной системы выявила существенный рост показателей, отражающих резервные возможности данных субклеточных органелл, как по сравнению с донагрузочным уровнем. Значимый достоверный прирост к донагрузочному уровню демонстрировали свободная активность обеих дегидрогеназ в расчете на 1 г белка (на 30,54–42,71 %, $p < 0,05$), свободная активность сукцинатдегидрогеназы в расчете 1 г массы ткани печени (на 40,06 %, $p < 0,05$). Несмотря на прирост активности, степень реакции митохондриальных показателей не достигала значений, регистрируемых у здорового контроля по отношению к донагрузочному уровню. Такая динамика результатов теста с «ударной» нагрузкой, вероятно, отражает структурные изменения ткани печени, состоящие в активном формировании соединительной ткани и образовании узлов регенерации.

Таким образом, оценка результатов теста позволяет судить о состоянии резервных возможностей субклеточных органелл на этапах хронического токсического поражения органа.

Применение энтеросорбции в качестве лечебного мероприятия в указанные сроки приводило к следующим изменениям теста с «ударной» нагрузкой гепатотропным ядом.

На 10-й неделе моделируемой патологии семидневный курс энтеросорбции приводил к дополнительному увеличению резервных возможностей лизосомальной системы печени, проявляемому дополнительным (по сравнению с животными без лечения) приростом общей активности изучаемых гидролаз по отношению к донагрузочному уровню. Данная динамика касалась не только кислых нуклеаз и катепсина Д, но и бета-Д-галактозидазы. Другие виды активности лизосомальных гидролаз не демонстрировали сколько-нибудь значимого роста, отношение неседиментируемой активности к общей активности не возрастало.

Энтеросорбция также способствовала улучшению резервных возможностей митохондриальной системы, что, прежде всего, проявлялось заметным ростом свободной активности обеих изучаемых дегидрогеназ в расчете на 1 мг белка на 62,87–66,19 % ($p < 0,05$), общей активности малакдегидрогеназы по отношению к донагрузочному уровню. Показатели V_3 , $V_{св}$, дыхательный контроль Чанса и дыхательный контроль Лорди, скорость фосфорилирования практически не изменялись (недостоверные колебания в пределах 4,00–12,00 % по отношению к донагрузочному уровню). Положительная динамика фиксировалась при сравнении результатов теста при проведении энтеросорбции с реакцией у животных с 10-недельным токсическим поражением без эфферентного воздействия.

Энтеросорбция, проводимая семидневным курсом на 20-й неделе хронического токсического поражения тетрахлорметаном, оказывала на состояние резервных возможностей лизосомальной системы печени разнонаправленное влияние. Реакция активности бета-Д-галактозидазы на «ударную» нагрузку была менее выраженной, чем у животных без энтеросорбции, что, вероятно, отражает некоторое замедление процессов фиброгенеза. Одновременно прогрессировали негативные изменения со стороны видов активности кислых нуклеаз (рост доступной и неседиментируемой активности, отношения неседиментируемой активности к общей активности, менее заметный прирост или отсутствие увеличения значений общей активности), относительно благоприятная динамика показателей для катепсина Д.

Проведение энтеросорбции не вызывало достоверных изменений в результатах теста, направленных на оценку функциональных резервов митохондриальной системы.

Проведение теста на фоне эфферентного воздействия подтверждает начальную стадию снижения функциональных резервов лизосомальной системы и свидетельствует о необходимости взвешенного подхода к проведению коррекционных мероприятий.

Результаты исследования позволяют обосновать использование теста с «ударной» нагрузкой тетрахлорметаном для оценки функциональных резервов лизосомальной и митохондриальной систем гепатоцитов, косвенно отражают морфофункциональные сдвиги со стороны изучаемых субклеточных органелл в ходе развития хронической интоксикации и позволяют судить о тяжести и стадии токсического поражения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Отчет и документы XXVIII Совещания Сторон Монреальского протокола [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://conf.montreal-protocol.org/meeting/mop/mop-28/final-report/SitePages/Home.aspx> / Организация Объединенных Наций. UNEP/OzL.Pro.28/12. Distr.: General 15 November 2016. Russian. (дата обращения: 28.02.2019).

ШУМОВОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ КАК ОДНА ИЗ САМЫХ СЕРЬЕЗНЫХ ПРОБЛЕМ МЕГАПОЛИСА NOISE POLLUTION AS ONE OF THE MOST SERIOUS PROBLEMS OF THE MEGAPOLIS

Н. А. Козелько
N. Kozelko

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
ninakozelko@gmail.com
Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus*

Жизнь в мегаполисе имеет огромное количество преимуществ. Большой город дает гораздо больше возможностей для самореализации, для получения хорошего образования и трудоустройства, для ведения собственного бизнеса. Однако в жизни в условиях мегаполиса существует ряд недостатков, которые негативно сказываются на физическом и психическом здоровье населения. Одним из таких факторов, оказывающих влияние на состояние здоровья, является повышенный уровень шума.

Life in the metropolis has a huge number of advantages. The big city provides much more opportunities for self-realization, for getting a good education and employment, for running your own business. However, there are a number of shortcomings in the living conditions of the metropolis that adversely affect the physical and mental health of the population. One of these factors is the increased noise level.

Ключевые слова: шум, шумовое загрязнение, мегаполис, обучающиеся, раздражение, агрессивность, тревожность.

Keywords: noise, noise pollution, metropolis, schoolchildren, irritation, aggressiveness, anxiety.

Шум рассматривается как один из наиболее значимых физических факторов. «Шумовое загрязнение» официально признано учеными третьим по степени вредного воздействия на здоровье человека фактором окружающей среды.

Шумом является всякий нежелательный для человека звук. Разные люди по-разному реагируют на шумы. Важную роль играет актуальное психическое состояние человека, воспринимающего шум, именно этот фактор затрудняет определение понятия «шум», но и также определение мер по борьбе с шумом.

С физической точки зрения шум (звук) – это упругие колебания, которые распространяются волнообразно в твердой, жидкой или газообразной среде. Звуковые волны возникают при нарушении стационарного состояния среды вследствие воздействия на нее какой-либо возмущающей силы [1].

Шумовое загрязнение – представляет собой одну из самых серьезных экологических проблем цивилизованного мира. Шум окружает нас повсюду: в жилых помещениях, на улицах, вблизи автомагистралей и железных дорог, в метро, на производственных предприятиях. Ежегодно возрастает количество шума, оказывающее на нас воздействие. Кроме того, мы подвергаемся действию неслышимых шумов – ультразвука и инфразвука. Жизнь в условиях современного мегаполиса вынуждает нас существовать в состоянии акустического дискомфорта.

Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.11.2011 г. №115 утверждены Санитарные нормы, правила и гигиенические нормативы «Шум на рабочих местах, в транспортных средствах, в помещениях жилых, общественных зданий и на территории жилой застройки». Согласно Приложению 2 данно-