

УДК 577.15-577.123.383+612.314.3+614.876

ИММУНИТЕТ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ ПРИ СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РАДИАЦИИ И РТУТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Прозор И.И., Нысамбаева К.С.

РГП «Государственный медицинский университет города Семей», Семей, e-mail: meli87@mail.ru

К настоящему времени опубликованы статьи и обзоры о воздействии на организм только радиации либо ртутной интоксикации. В данном исследовании приводятся сведения о сочетании воздействия данных факторов на ключевые ферменты пуринового обмена – аденозиндеаминазу, АМФ-деаминазу, 5'-нуклеотидазу – и иммунный статус. Понимание процессов сочетанного воздействия радиации и ртутной интоксикации представляет собой важнейший шаг в направлении изучения возможности коррекции изменений иммунного статуса, обмена пуриновых нуклеотидов при ртутной интоксикации облученного организма.

Ключевые слова: радиация, ртутная интоксикация, ферменты пуринового обмена, иммунный статус

IMMUNITY AND ENZYME ACTIVITY OF PURINE NUCLEOTIDES IN THE COMBINED EFFECTS OF RADIATION AND MERCURY INTOXICATION

Prozor I.I., Nysambaeva K.S.

Semey State Medical University, Semey, e-mail: meli87@mail.ru

To date, published articles and reviews on the effects of radiation or only just mercury intoxication on the body. This study provides information on the combined effect of these factors on the key enzymes of purine metabolism – adenosine deaminase, AMP deaminase and 5'- nucleotidase – and immune status. Understanding the processes of radiation and combined effects of mercury intoxication is an important step in the direction of exploring the possibility of correction of immune status changes, the exchange of purine nucleotides mercury intoxication irradiated organism.

Keywords: radiation, mercury intoxication, enzymes of purine metabolism, immune status

Ионизирующее излучение, в том числе от источников искусственного происхождения, относят в настоящее время к наиболее опасным неблагоприятным внешнесредовым влияниям на организм человека и высших животных. Это определяет неослабевающий интерес ученых к проблеме лучевого поражения. Особое значение данный вопрос приобретает вследствие беспрецедентных по количеству испытаний, произведенных на бывшем Семипалатинском ядерном полигоне. Как показали исследования, практически все территории бывшей Семипалатинской и Восточно-Казахстанской областей подверглись радиационному загрязнению, а Семипалатинский регион является одним из наиболее неблагоприятных регионов республики Казахстан.

Не последнее место занимает проблема ртутного загрязнения территории Казахстана: почво-грунтов, атмосферного воздуха, пойм и берегов рек. Согласно множественным исследованиям, среди химических факторов, загрязняющих окружающую среду, ртуть играет исключительную роль, благодаря способности образовывать в природе высокотоксичные органические соединения. Независимо от источника загрязнения ртутью большинство ее соединений в природе переходит в метилртуть [1].

Ртуть относится к числу ядов, обладающих способностью образовывать депо в различных органах, преимущественно паренхиматозных, а также в костях, откуда может поступать в кровь. Основной механизм повреждающего действия ртути на субклеточные структуры заключается в блокировании SH-групп [2].

Учитывая неблагоприятное состояние экологической обстановки в Казахстане, особый интерес представляет комплексное изучение действия ртути и радиации на органы и системы организма с целью выработки новых, эффективных способов детоксикации и повышения резистентности организма при хроническом и остром ртутном отравлениях и при сочетанном воздействии радиации и ртутной интоксикации. Кроме того, анализ последствий сочетанных воздействий на организм комплекса таких поражающих факторов, как ионизирующее излучение и ртутная интоксикация, является одной из наименее исследованных областей науки.

Известно, что на уровне клеток действует регуляторная система пуриновых нуклеотидов и их производных: аденозинтрифосфат (АТФ), АДФ (аденозиндифосфат), АМФ (аденозинмонофосфат), аденозин, инозин, компоненты которых выступают

в роли универсальных внутриклеточных регуляторов как нервно-мышечной, секреторной и других физиологических функций, так энергетического обмена и иммунной системы. Установлено, что в основе клеточного и гуморального иммунитета лежат изменения активности ряда ферментов нуклеотидного обмена в различных субпопуляциях лимфоцитов [3]. Ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов аденозиндезаминаза (АДА), АМФ-дезаминаза (АМФ-ДА) и 5'-нуклеотидаза (5'-НТ) являются универсальными внутриклеточными модуляторами, регулирующими функции различных клеток, в частности, лимфоцитов при стрессе [4].

Цель исследования

Целью исследования явилось изучение изменения иммунного статуса и активности ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов аденозиндезаминазы (АДА), АМФ-дезаминазы (АМФ-ДА) и 5'-нуклеотидазы (5'-НТ) в наиболее чувствительных тканях печени, почек и сыворотке крови.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на белых крысах, подвергшихся излучению (гамма-лучами Со-60 на радиотерапевтической установке ЛУЧ-1). Мощность дозы – 128 рентген в минуту с последующей ртутной интоксикацией в течение 3 суток после облучения. Количество животных в каждой серии («контроль», «облучение», «облучение + сулема») составляло 10 особей.

Через 3 недели после экспериментальных воздействий животных декапитировали и осуществляли забор биоматериала для исследования. Активность 5'-НТ в лимфоцитах определяли по скорости гидролиза АМФ до аденозина и фосфорной кислоты и выражали в количестве мкмоль Н₃Р₀ на 1 мг белка. Активность АМФ-ДА и АДА определяли по скорости дезаминирования по методике, разработанной Тапбергеновым С.О. [5], и выражали в нмоль аммиака на мг белка.

Для оценки иммунологического статуса в периферической крови подсчитывали общее количество лейкоцитов и лимфоцитов. Количество Т-лимфоцитов преимущественно с хелперной (ТФУ-РОК) и супрессорной (ТФЧ-РОК) активностью определяли методом Limatyiuл S., Shore A. et al. (1978) [6]. Количество Т- и В-лимфоцитов определяли розеткообразующими тестами (Jondal V. et al (1972) [7]). Количество популяции лимфоцитных клеток определяли с использованием стандартной методики подсчета Т- и В-лимфоцитов.

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что при воздействии радиации в тканях печени и почек активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов повышается (табл. 1, 2).

Введение облученным животным раствора хлористой ртути (сулема) из расчета 1 мг/кг приводит к снижению активности всех изучаемых ферментов обмена пуриновых нуклеотидов в тканях печени и почек относительно облученных животных (табл. 1, 2). Вероятно, сулема снижает активирующее действие радиации на изучаемые ферменты в ткани печени и почек.

Таблица 1

Изменение активности ферментов пуринового обмена в ткани печени при сочетанном воздействии радиации и ртутной интоксикации (мкмоль/мл)

Фермент	Группа животных			
	Контроль	Облучение 6 Гр	Облучение 6 Гр + сулема	
5'-НТ	0,03 ± 0,001	0,11 ± 0,01*	0,079 ± 0,006**	p < 0,01
АДА	0,79 ± 0,013	5,19 ± 0,11*	0,53 ± 0,06**	p < 0,01
АМФ-ДА	0,52 ± 0,12	2,77 ± 0,09*	0,51 ± 0,09**	p < 0,01

Примечание. Здесь и далее * – различия статистически значимы в сравнении с контролем; ** – различия статистически значимы в сравнении с радиацией; p – для сравнения с радиацией.

Таблица 2

Изменение активности ферментов пуринового обмена в ткани почек при сочетанном воздействии радиации и ртутной интоксикации (мкмоль/мл)

Фермент	Группа животных			
	Контроль	Облучение 6 Гр	Облучение 6 Гр + сулема	
5'-НТ	0,03 ± 0,001	0,12 ± 0,001*	0,03 ± 0,001**	p < 0,01
АДА	1,13 ± 0,02	7,87 ± 0,08*	0,80 ± 0,11**	p < 0,01
АМФ-ДА	0,73 ± 0,11	4,06 ± 0,09*	0,69 ± 0,12**	p < 0,01

Таблица 3

Изменение активности ферментов пуринового обмена в сыворотке крови при воздействии радиации и ртутной интоксикации (мкмоль/мл)

Фермент	Группа животных			
	Контроль	Облучение 6 Гр	Облучение 6 Гр + сулема	
5'-НТ	6,73 ± 2,14	4,28 ± 1,73	4,82 ± 1,54	p < 0,01
АДА	22,36 ± 2,23	12,41 ± 2,81*	76,03 ± 1,14**	p < 0,01
АМФ-ДА	10,48 ± 2,31	4,51 ± 0,97*	49,34 ± 3,77**	p < 0,01

Таблица 4

Изменение иммунного статуса при сочетанном воздействии радиации и ртутной интоксикации

Показатель	Контроль	Облучение 6 Гр	Облучение 6 Гр + ртутная интоксикация
Лейкоциты, общее число (10 ⁹ /л)	6,46 ± 0,55	8,14 ± 0,34*	8,24 ± 0,62
Лимфоциты, %	40,30 ± 3,60	55,53 ± 3,84*	70,20 ± 4,76**
Лимфоциты, абс. сод-е в 1 мкл	2800,04 ± 113,12	4056,44 ± 211,39*	5748,40 ± 500,02**
Т-лимфоциты, %	32,2 ± 2,02	19,22 ± 3,76*	26,80 ± 4,99**
Т-лимфоциты, абс. сод-е в 1 мкл	1457,21 ± 84,30	784,11 ± 209,23*	1618,92 ± 253,83**
Т-супрессоры, %	10,82 ± 0,67	5,22 ± 0,77*	11,80 ± 3,44**
Т-супрессоры, абс. сод-е в 1 мкл	488,43 ± 22,76	297,77 ± 63,06*	708,40 ± 234,30**
Т-хелперы, %	21,00 ± 1,90	11,00 ± 1,21*	15,00 ± 3,21
Т-хелперы, абс. сод-е в 1 мкл	698,00 ± 45,91	442,00 ± 123,96*	910,52 ± 283,68**
В-лимфоциты, %	7,0 ± 1,10	14,67 ± 1,71*	11,40 ± 2,87
В-лимфоциты, абс. сод-е в 1 мкл	318,42 ± 16,50	606,44 ± 83,47*	655,72 ± 182,65

В сыворотке крови воздействие радиации вызывает понижение активности ферментов пуринового ряда. После введения хлористой ртути имеет место повышение активности изучаемых ферментов, в особенности АДА и АМФ-ДА (табл. 3).

В следующей серии исследований изучено состояние иммунного ответа при сочетанном воздействии радиации и ртутной интоксикации. Установлено, что после воздействия радиации отмечается изменение основных показателей системы клеточного и гуморального иммунитета. При облучении возрастает общее число лейкоцитов, лимфоцитов, В-лимфоцитов в том числе; снижается содержание Т-лимфоцитов и, в частности, Т-супрессоров и Т-хелперов (табл. 4).

Введение облученным животным хлористой ртути приводит к снижению относительного содержания В-лимфоцитов. В остальном, имеет место повышение показателей иммунного статуса.

Проводя сравнительный анализ эффектов разных изучаемых стрессорных факторов (радиация, ртутная интоксикация), нами установлены значительные сходства в механизме их действия на метаболизм и клеточные функции. Однако при ртут-

ной интоксикации по сравнению с воздействием радиации имеет место снижение уровня В-лимфоцитов, что в какой-то мере объясняется особенностями эффектов ртутной интоксикации на систему иммунитета и ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов.

Тапбергеновым С.О. было показано участие адено-тиреоидной системы в становлении адаптационного синдрома и возможности формирования синдрома адено-тиреоидной недостаточности при разном типе стрессорных на организм воздействиях, в том числе и радиационном [8]. В определенной степени, обнаруженные нами различия эффектов действующих на организм стрессорных факторов можно объяснить разной степенью становления защитных механизмов и уровнем активности регуляторной функции адено-тиреоидной системы.

Заключение

1. При радиационном стрессе имеет место повышение процента и абсолютного числа лимфоцитов, за счет увеличения числа В-лимфоцитов, снижается число Т-лимфоцитов и их субпо-

пуляций – Т-хелперов и Т-супрессоров. В сыворотке крови снижается активность 5'-нуклеотидазы, аденозиндезаминазы, АМФ-дезаминазы.

2. При сочетанном воздействии радиации и ртутной интоксикации обнаружено изменение иммунного статуса. В сыворотке крови имеет место увеличение общего числа лейкоцитов и лимфоцитов относительно как контрольной, так и облученной групп животных; снижение количества относительного количества В-лимфоцитов относительно облученных животных. В сыворотке крови повышается активность изучаемых ферментов как относительно контроля, так и относительно облученных животных. В печени и почках резко снижается активность изучаемых ферментов.

Список литературы

1. Давыдова С.Л., Тагасов В.И. Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века. – М.: Изд-во РУДН, 2002. – 140 с.
2. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления. – М.: Медицина, 2000. – С. 3–5.
3. Rich K.C. Immunoreconstitution by Peripheral Blood Leukocytes in Adenosine Deaminase-deficient Severe Combined Immunodeficiency / K.C. Rich, C.M. Richman, E. Mejias at al. // J. Clin. Invest. – 1980. – V. 66 (2). – P. 389–395.
4. Barankiewicz J. Selective adenosine release from human B but not T lymphoid cell line / J. Barankiewicz, G. Ronlov, R. Jimenez at al. // J. Biol. Chem. – 1990. – V. 265. – P. 15738–15743.
5. Тапбергенов С.О., Тапбергенова С.М. // Лаб. дело. – 1984. – № 2. – С. 104–107.
6. Limatyul S. Theophyllini modulation of E-rosette formation and indicator of T-cell neonaturation / S. Limatyul, A. Shore, H.M. Dosch at al. // J. Clin. and Exp. Immunol. – 1978. – Vol. 33, № 3. – P. 503–510.
7. Jondal M. Moleculare analyses of T-cells and B-cells / M. Jondal, G. Holm, H. Wigzel // J. Exp. Med. – 1972. – Vol. 136. – P. 207–209.
8. Тапбергенов С.О., Тапбергенов Т.С. Адрено-тиреоидная система. Биоэнергетика клетки и механизмы адаптации к стрессу. – Семипалатинск: Изд-во СГМА, 1998. – 168 с.