

Н. К. Шамсиева, А. А. Хусинов

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ НЕЙРОСЕКРЕТОРНЫХ ЯДЕР ПЕРЕДНЕГО ГИПОТАЛАМУСА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Кафедра патофизиологии (зав.— проф. А. А. Хусинов) и ЦНИЛ (зав.— доктор мед. наук С. А. Плескановская) Самаркандского медицинского института

В исследованиях последних лет показана роль ряда химических веществ (бензол, пестициды) в механизмах нарушения функции и структуры нейросекреторных клеток (НСК) гипоталамуса [1, 2, 8].

Однако работ, посвященных изучению состояния активности ферментных систем НСК гипоталамуса при воздействии на организм пестицидов, в частности из группы фосфорорганических соединений (ФОС), в доступной литературе мы не встретили. Между тем препараты ФОС в настоящее время применяются в народном хозяйстве достаточно широко. В связи с этим в настоящей работе изучалась активность ферментов гликолиза — лактатдегидрогеназы (ЛДГ), цикла Кребса — сукцинатдегидрогеназы (СДГ), системы транспорта электронов — НАД- и НАДФ-диафоразы, а также активность гидролитических ферментов — кислой и щелочной фосфатаз (КФ, ЩФ) в супраоптических (СОЯ) и паравентрикулярных (ПВЯ) ядрах гипоталамуса в сопоставлении с морфофункциональными сдвигами в них при отравлении организма ФОС антио в дозе $1/10$ ЛД₅₀. Отравление животных производили 25% техническим препаратом антио через рот с помощью зонда 1 раз в сутки в течение 30 дней.

Материалы и методы

Исследования проводили на 72 белых беспородных крысах-самцах массой 180—220 г, содержащихся в обычных условиях вивария. На 8, 20, 30-е сутки после отравления животных декапитировали.

Для исследования активности ферментов нейросекреторных ядер (НСЯ) гипоталамуса кусочки фиксировали в жидком азоте сразу же после забоя животных. Срезы толщиной 9—10 мкм получали в криостате при -18°C . Активность ферментов КФ и ЩФ определяли по методу Берстона [9], СДГ, ЛДГ, НАД- и НАДФ-диафораз — по Нахласу [3].

Для морфологических исследований гипоталамус фиксировали в жидкости Буэна с последующим обезвоживанием кусочков в спиртах возрастающей концентрации, затем заливали их в парафин. Для суждения о содержании нейросекреторного материала (НСМ) серийные срезы толщиной 6—7 мкм окрашивали паральдегидфуксином по Гомори — Габу и хромовоквасцовым гематоксилином по Гомори. Проводили также кариометрию ядер СОЯ и ПВЯ. О степени различий полученных в опытах данных судили по критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

У животных, забитых на 8-й день отравления, наблюдалась высокая активность изучаемых ферментов, особенно СДГ, которая в СОЯ и ПВЯ гипоталамуса увеличивалась почти в 2—3 раза (рис. 1). Активность НАД и НАДФ также нарастала. Что касается гидролитических ферментов, то активность КФ и ЩФ в те же сроки отравления в СОЯ и ПВЯ снижалась, причем снижение активности КФ было более выраженным, чем ЩФ.

Видимо, повышение содержания СДГ, НАД, НАДФ в СОЯ и ПВЯ на 8-й день отравления ФОС может свидетельствовать о высоком уровне в НСК окислительных процессов и особенно окислительного фосфорилирования. По-видимому, в эти сроки отравления одновременно наблюдается

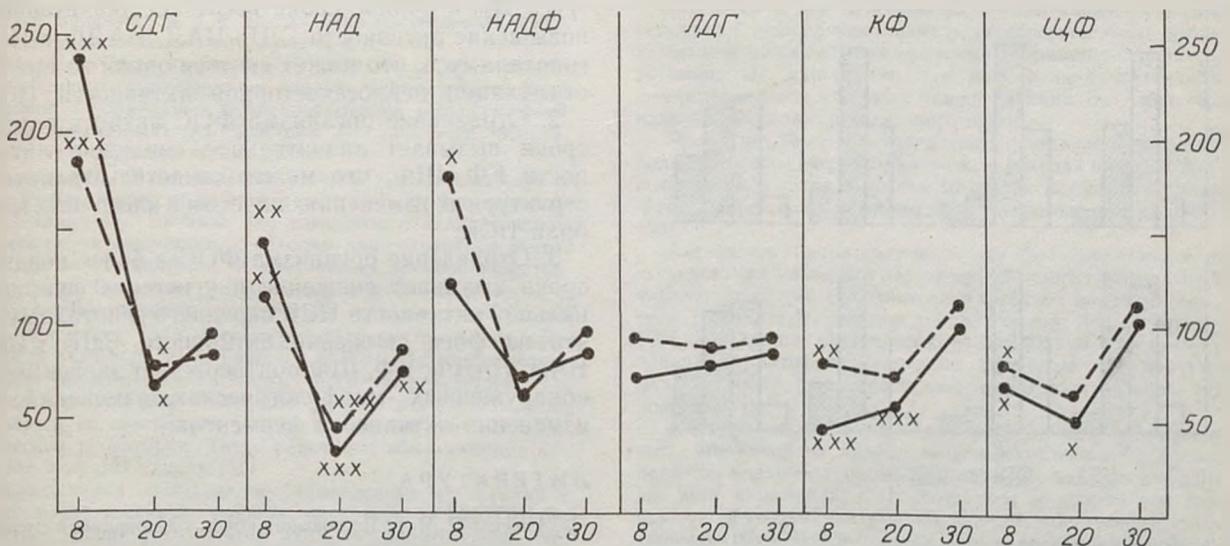


Рис. 1. Изменение активности ферментов НСК переднего гипоталамуса у животных после отравления ФОС антио в дозе $1/10$ ЛД₅₀. Сплошная линия — СОЯ, пунктирная — ПВЯ. Показатели контроля приняты за 100. По оси ординат — степень изменений активности ферментов; по оси абсцисс — сроки отравления (в сут). Достоверность различий по сравнению с контролем: одна звездочка — $p < 0,05$, две звездочки — $p < 0,01$, три звездочки — $p < 0,001$.

Объемы ядер (в мкм³) НСК, СОЯ и ПВЯ гипоталамуса у контрольных животных и у животных с различными сроками отравления ФОС антио в дозе 1/10 ЛД₅₀ (M±m)

Ядро	Контроль	Сроки отравления, сут		
		8	20	30
СОЯ	349±4,6	412±7,1***	300±4,0***	324±7,0**
ПВЯ	364±5,5	424±14,1**	310±11,4*	340±0,1*

Примечание. Достоверность различий по сравнению с контролем: одна звездочка — $p < 0,05$, две звездочки — $p < 0,01$, три звездочки — $p < 0,001$.

и активный выход из поврежденных НСК во внеклеточную среду лизосомальных гидролаз, которые имеют КФ [5, 7] и поступление ЩФ через поврежденные мембраны в капилляры, поэтому количество их снижалось.

Согласно данным литературы, в интактном состоянии в нейронах переднего гипоталамуса обнаруживается небольшое количество СДГ [4], и в то же время отмечается достаточно высокая активность КФ, гранулы которой заполняют всю цитоплазму НСК [10].

На 20-й день отравления наблюдалось снижение активности почти всех изученных ферментов. В то же время активность ЛДГ существенно не отличалась от контроля. Можно допустить, что такой характер изменений активности ферментов свидетельствует о нарастании в какой-то мере в эти сроки отравления интенсивности анаэробного пути окисления.

На 30-й день отравления отмечалась склонность к нарастанию активности гидролитических ферментов, количество их было несколько большим, чем у интактных крыс. В то же время активность СДГ, ЛДГ, НАД, НАДФ незначительно уменьшалась.

Что касается изменений морфологических и морфометрических показателей (см. таблицу, рис. 2), то у животных, забитых на 8-й день отравления, в НСК СОЯ и ПВЯ преобладали в основном увеличенные в размерах светло-окра-

шивающиеся набухшие клетки с низким содержанием НСМ (клетки I и II типов), которые по классификации Поленова [6] относятся к клеткам с выраженной функциональной активностью. Через 20 сут в СОЯ и ПВЯ, наоборот, увеличивалось количество темно-окрашивающихся клеток с большим содержанием НСМ и уменьшенными в объемах ядрами (клетки III типа), что свидетельствует о понижении функциональной активности этих клеток (Поленов, 1971). На 30-е сутки наблюдалась тенденция к восстановлению нейросекреторной активности. При этом количество НСК I, II типов уменьшалось, а количество клеток III типа увеличивалось. Однако одновременно увеличивалось и количество дегенеративных пикноморфных клеток (клетки IV типа).

По данным литературы (Поленов, 1971), высокое содержание нейросекрета может указывать как на интенсивный синтез, так и на задержку транспорта при низкой скорости его синтеза. Повышение содержания нейросекрета в клетках связано скорее с торможением его выведения, чем с повышением синтеза. Следовательно, выявленное уменьшение объема ядер и НСМ в НСК СОЯ и ПВЯ на 20-е сутки отравления может свидетельствовать о понижении их функциональной активности.

Таким образом, изучение активности окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов крупноклеточных ядер переднего гипоталамуса при отравлении ФОС антио показало, что изменение активности ферментов коррелирует во времени и совпадает с морфофункциональными сдвигами НСК переднего гипоталамуса. Поэтому можно утверждать, что одним из патогенетических механизмов и возможных причин морфофункциональных сдвигов в НСК при отравлении организма пестицидами может быть нарушение активности ключевых ферментов цикла Кребса и анаэробного гликолиза, а также гидролитических ферментов.

Выводы

1. Отравление организма ФОС антио в дозе 1/10 ЛД₅₀ в ранние сроки вызывает значительное повышение активности СДГ, НАД, НАДФ в НСЯ гипоталамуса, что может явиться одной из причин стимуляции нейросекреторной активности НСК.

2. Отравление организма ФОС антио в ранние сроки вызывает значительное снижение активности КФ, ЩФ, что может свидетельствовать о структурных изменениях лизосом и клеточных мембран НСК.

3. Отравление организма ФОС в более поздние сроки вызывает снижение и угнетение функциональной активности НСК переднего гипоталамуса, что на фоне снижения активности СДГ, ЛДГ, НАД, НАДФ, КФ, ЩФ подтверждает зависимость обнаруженных морфологических изменений от изменения активности ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азизова О. М. // Всесоюзная конф. «Эндокринная система и вредные факторы внешней среды», 3-я.— Л., 1987.— С. 6.
2. Бахтизина Г. З. // Всесоюзная конф. «Эндокринная система и токсические факторы внешней среды», 1-я.— Л., 1979.— С. 11.

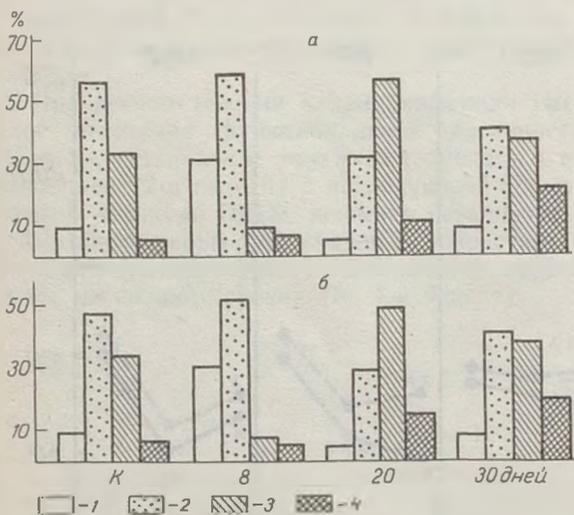


Рис. 2. Содержание различных типов НСК в СОЯ (а) и ПВЯ (б) у контрольных (К) и отравленных ФОС животных (в % от общего числа клеток).

1 — светлые НСК; 2 — НСК с умеренным содержанием НСМ; 3 — темные НСК; 4 — пикноморфные клетки.

3. Волкова О. В., Елецкий Ю. К. Основы гистологии и гистологической техники.— М., 1982.— С. 292.
4. Гуляниц Э. С. // Пробл. эндокринологии.— 1975.— № 3.— С. 110.
5. Коровкин Б. Ф. // Вестн. АМН СССР.— 1982.— № 9.— С. 69.
6. Поленов А. Л. Гипоталамическая нейросекреция.— Л., 1971.— С. 89.
7. Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы.— М., 1976.— С. 13.
8. Хусинов А. А., Курамбаев Я. К., Зияева Д. Х. // Нарушение механизмов регуляции и их коррекция.— М., 1989.— Т. 1.— С. 217.
9. Burston M. S. Enzyme Histochemistry and its Application in the Study of Neoplasm.— New York, 1962.
10. Eranko O. // Acta physiol. scand.— 1951.— Vol. 24, N 1.— P. 6.

Поступила 26.03.92

N. K. Shamsiyeva, A. A. Khusinov — ACTIVITIES OF THE ANTERIOR HYPOTHALAMUS NEUROSECRETORY NUCLEAR ENZYMES IN EXPOSURE TO ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS

Summary. Under study were activities of glycolysis enzymes: LDH, Krebs' cycle — SDH, those of electron transport system — NAD and NADP-diaphorase, and of the hydrolytic enzymes, acid and alkaline phosphatases in the hypothalamus, as were morphofunctional shifts in these enzymes' activities in poisoning with organophosphorus compounds. The experiments were carried out in 72 white male outbred rats weighing 180-200 g, that were administered PHOS antio (an organophosphorus compound) in a daily dose of 0.1 LD₅₀ for 30 days. Early dates of poisoning were associated with an essential rise of the redox enzymes and a lowering of the hydrolytic enzymes levels, this being paralleled by morphologic signs of activation of the neurosecretory cells. Later high levels of neurosecretory material in the neurosecretory nuclei and reduced counts of neurosecretory cells were coupled with almost all the enzymes' activities lowering. This permits a conclusion that changed activities of the enzymic systems may be one of the pathogenetic mechanisms and possible causes of neurosecretory cell dysfunction in pesticide poisonings.

ОБЗОРЫ

© В. Н. БАБИЧЕВ, Т. В. ЕЛЬЦЕВА, 1993

УДК 618.179-02:015.356]-07

В. Н. Бабичев, Т. В. Ельцева

ВИТАМИНЫ И ИХ РОЛЬ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

Лаборатория физиологии эндокринной системы (руководитель — проф. В. Н. Бабичев) Эндокринологического научного центра (дир — член-корр. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Необходимость анализа данных литературы о роли витаминов в нормальном функционировании репродуктивной системы логически вытекает из общей постановки вопроса о механизмах ее центральной регуляции. Витамины, как и гормоны, являются высокоактивными соединениями, причастными к работе всех звеньев регуляции гонадотропной функции гипофиза на уровне как гипоталамуса, так и гипофиза и половых желез. Такой витамин, как D₃ с его общегенерализованным действием, может быть рассмотрен как аналог гормонов, принимающих участие в реализации гормональных эффектов на всех уровнях. Большой интерес у эндокринологов-клиницистов проявляется и к другим жирорастворимым витаминам, какими являются витамины А и Е.

Исходя из вышесказанного, нами была предпринята попытка описать существующие концепции относительно роли витаминов в нормальном функционировании репродуктивной системы, механизмах их действия и значимости использования их в терапевтических целях.

Витамин D₃. Максимальный интерес у исследователей в плане изучения роли витаминов в системе репродукции вызывает витамин D₃. Витамин D₃, совместно с кальцитонином и тиреоидными гормонами, необходим для сохранения гомеостаза кальция и фосфора. К настоящему времени известно, что витамин D₃ влияет на процессы ионного транспорта в таких органах-мишенях его действия, как кишечник, почки и костная ткань [56]. Механизм действия одного из производных витамина D₃, а именно 1,25(OH)₂D₃, являющегося наиболее биологически активным, аналогичен действию стероидных гормонов [22]. Инициация его действия внутри клетки начинается со связывания его со специфическим цитоплазматическим рецептором. Такие рецепторы обнаружены в кишечнике и других тканях [55].

Исследования последних лет, проведенные на органах и тканях млекопитающих, выявили рецепторы к 1,25(OH)₂D₃ в костной ткани [14], почках [18], околощитовидных железах [37], гипофизе [35], молочных железах и коже [19], половых железах [36], а также в некоторых опухолевых клеточных линиях, в частности в остеогенной саркоме [49], и MCF-7, клетках опухоли молочной железы [25].

Хотя функции 1,25(OH)₂D₃ еще до конца не раскрыты,

наличие рецепторов к нему во многих тканях и органах, не связанных непосредственно с регуляцией метаболизма кальция и фосфора, ставит перед исследователями вопрос о специфическом значении данного соединения в регуляции различных системных реакций организма, и в частности в контроле репродукции.

В опубликованной в последние годы литературе, посвященной проблеме влияния витамина D₃ на репродуктивную функцию, нам представляется целесообразным выделить и рассмотреть ряд аспектов, в которых обмен витамина D₃ в организме и его действие на органы-мишени связаны с регуляцией репродукции самым непосредственным образом. К таковым можно отнести модуляцию активности гидроксилаз витамина D₃ эстрогенами, его роль в процессах роста и дифференцировки клеток, а также витамин D₃ — как гормональный мессенджер солнечного света.

Чтобы приобрести биологическую активность витамин D₃ должен дважды гидроксिलироваться, сначала в печени 25-гидроксилазой, а затем в почках 1α-гидроксилазой, в результате чего образуется активный метаболит витамина — 1,25(OH)₂D₃ [23].

Активность 1α-гидроксилазы, как было показано в ряде исследований, находится под контролем многих факторов, в том числе и гормонов. Основным эндокринным модулятором синтеза 1,25(OH)₂D₃ являются паратгормон [59] и эстрогены [66]. Эти данные представляются весьма существенными для понимания патофизиологических процессов при нарушении функции почек, гипопаратиреозе, постменопаузальном остеопорозе.

Имеется весьма значительное число данных, подтверждающих, что одной из причин вышесписанных заболеваний является нарушение процессов активного захвата кальция из просвета кишечника [24]. Эстрогены и прогестерон стимулируют 1α-гидроксилазу почек курицы, обеспечивая высокий уровень 1,25(OH)₂D₃ в крови, что в свою очередь приводит к улучшению утилизации кальция и способствует образованию яичной скорлупы [12]. Заметное повышение активности почечной 1α-гидроксилазы наблюдается у цыплят и петушков при инъекции им эстрогенов и гестагенов [66]. Что касается человека, то исследования, проведенные у женщины, страдаю-