



УДК 612.822.1:577.15.156:615.9

ПРОТЕОЛИЗ И ЕГО ИНГИБИРОВАНИЕ В НЕРВНОЙ ТКАНИ И КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДЕМЬЕЛИНИЗАЦИИ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ

КУЗЬМИНСКАЯ У. А., БАДАЕВА Л. Н., ДРОБИНСКАЯ О. В., ЗАСЕНКО Н. И.

ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс
МЗ СССР, Киев

Значительное место в патологии НС занимают демьелинизирующие заболевания, к числу которых относятся токсические экзо- и эндогенные полиневропатии, а также синдром отдаленной нейротоксичности (ОНТ), возникающий при действии некоторых фосфорорганических соединений (ФОС).

ОНТ клинически проявляется через 7—8 суток после перенесенного острого отравления в форме атаксии, парезов, переходящих к 18—21 суткам в стойкий паралич; морфологически ОНТ характеризуется очаговой демьелинизацией.

Биохимические основы развития синдрома ОНТ изучены недостаточно. Выявлены изменения активности нейротоксической эстеразы [1]. K^+ , Na^+ -АТФазы, β -галактозидазы, кислой фосфатазы, холинэстеразы, уровни гликолипидов, эфиров холестерина, серотонина, 5-ОИУК [2—5]. Вместе с тем, можно полагать, что в развитии процесса демьелинизации химической этиологии важная роль принадлежит активности тканевых протенназ и их ингибиторов, тем более, что при рассеянном склерозе, распространенном демьелинизирующем заболевании, в нервной ткани выявлена повышенная протеолитическая активность [6].

Исходя из вышесказанного предположения, целью настоящей работы явилось изучение активности катепсина Д (КФ 3.4.23.5) и ингибиторов протеолиза при экспериментальной демьелинизации химической этиологии.

Экспериментальную модель демьелинизации вызывали у кур массой 1,0—1,5 кг путем однократного перорального введения 200 мг/кг афоса (0,0-дифенил-1-ацетокси-2,2,2-трихлорэтилфосфонат).

Через 7 суток (стадия предпаралича) и 21 сутки (стадия паралича) кур декапитировали. Для определения активности катепсина Д навески тканей спинного мозга и периферического нерва гомогенизировали в 0,25 М растворе сахарозы, приготовленном на 0,01 М трис-НСI буфере, рН 7,4, содержащем 0,001 М ЭДТА, соотношение ткань—буфер 1:10. Активность катепсина Д определяли по методу Anson [7] в модификации Поляковой и соавт. [8] и выражали в мкмоль тирозина, отщепленного от гемоглобина за 1 ч инкубации при 37°, рН 3,5 на 1 г сырой ткани или 1 л сыворотки.

Для определения активности ингибиторов протенназ ткань спинного мозга гомогенизировали в фосфатном буфере рН 7,6 (соотношение ткань—буфер 1:10); сыворотку крови разводили фосфатным буфером для определения α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ) в 20 раз, а

общей антитриптической активности (ОАТА) и α_1 -антихимотрипсина (α_1 -АХТ)—в 100 раз. В гомогенате и разведенной сыворотке крови α_2 -МГ, ОАТА и α_1 -АХТ определяли методом Веремсенко [9] и выражали в мкг инактивированного трипсина на 1 г ткани или 1 мл сыворотки.

Морфологические изменения нервных структур поясничного отдела спинного мозга изучали с помощью метода электронной микроскопии.

Было установлено, что развитие экспериментальной демиелинизации химической этиологии проявлялось у кур возникновением парезов (7 суток после введения препарата) и параличей (21 сутки).

При электронномикроскопическом исследовании обнаружены различной степени выраженности ультраструктурные изменения нейроцитов и миелиновых волокон. На фоне внутри- и межклеточного отека в нейроцитах наблюдаются очаговые перинуклеарные расширения, маргинальная конденсация хроматина, деструкция крист митохондрий и очаговая фрагментация канальцев эндоплазматического ретикулума. Отчетливые нарушения ультраструктуры обнаружены в миелиновых волокнах крупного и среднего калибров. Имеет место очаговая дегенерация, извитость и гомогенизация миелиновых мембран. Обнаружены участки расслоения миелиновых пластин, очаги зернистого распада миелина и изменения его ламеллярной организации. В крупных волокнах расслоение миелина сопровождается снижением его контрастности, вплоть до частичного оптического «лизиса», наличием очаговой демиелинизации.

Активность катепсина Д (табл. 1) в спинном мозгу практически не изменяется. В периферическом нерве наблюдается резкое возрастание активности фермента на 52% в стадии предпаралича и на 96% в стадии паралича. Существенно, на 53%, увеличивается активность катепсина Д в сыворотке крови.

Таблица 1

Активность катепсина Д в нервной ткани (мкмоль/г/ч) и крови (мкмоль/ч/л) кур при экспериментальной демиелинизации (n=10—12)

Объект исследования	Контроль	Предпаралич	Паралич
Спинной мозг	16.53±2.16	15.93±2.36	14.62±2.72
Периферический нерв	5.44±0.90	8.10±0.92 p<0.05	10.64±0.47 p<0.05
Сыворотка крови	12.75±1.87	15.0±2.47	19.5±2.25 p<0.05

Изменения активности ингибиторов протеолиза (табл. 2) носят противоположный характер. В спинном мозгу, в стадии предпаралича, снижается активность α_2 -МГ на 60% и α_1 -АХТ на 20%; в сыворотке крови уменьшается активность всех исследованных ингибиторов: ОАТА, α_2 -МГ и α_1 -АХТ на 16%, 400% и 12% соответственно.

В стадии паралича изменения ингибиторов аналогичны выявленным. В спинном мозгу уменьшена активность α_2 -МГ и α_1 -АХТ на 43% и 25% соответственно; в плазме крови ОАТА—на 20%; α_2 -МГ—на 50% и α_1 -АХТ—на 18%. Обращает на себя внимание значительное (на 40—60%) снижение активности как в спинном мозгу, так и в плазме крови одного из основных ингибиторов протениаз— α_2 -МГ.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при развитии экспериментальной демиелинизации химической этиологии в периферическом нерве увеличивается активность катепсина Д, что можно рассматривать как результат нарушения под влиянием фос-

Активность ингибиторов протеолиза в нервной ткани (мкг/г) и крови (мкг/л) кур при экспериментальной демиелинизации (n=7-13)

Показ. тел.	Спинной мозг			Сыворотка крови		
	Контроль	Предпара- лич	Паралич	Контроль	Предпа- рлич	Паралич
ОАТА	331.4±31.8	289.4±18.4	306.4±31.8	3878±189	3275±145 p<0.05	31.08±263 p<0.05
α_2 -МГ	240.0±50.0	94.0±10.0 p<0.05	38.0±10.0 p<0.05	335.0±51.0	181.0±27 p<0.05	160±18.0 p<0.05
α_1 -АХТ	82.4±5.1	67.2±3.6 p<0.05	63.0±5.0 p<0.05	1058±43	933±45 p<0.05	869±42 p<0.05

форорганического соединения афоса нормального процессинга лизо-сомных ферментов.

Существенное увеличение активности ферментов сыворотки крови, скорее всего, является результатом нарушения клеточных мембран.

Обнаруженное снижение активности ингибиторов, в основном, сериновых протеиназ, создает дополнительные условия для усиления процессов протеолиза. Все это может явиться одной из причин очаговой демиелинизации, что подтверждается патоморфологическими исследованиями.

PROTEOLYSIS AND ITS INHIBITION IN NERVOUS TISSUE AND BLOOD IN RESPONSE TO EXPERIMENTAL CHEMICAL DEMYELINIZATION

KUZMINSKAYA U. A., BADAIEVA L. N., DROBINSKAYA O. V., ZASENKO I. I.
National Research Institute of Hygiene and Toxicology of Pesticides, Polymers and Plastics, USSR Ministry of Health, Kiev

An increase in proteolytic activity and decreased activity of proteinase inhibitors, specifically of α_2 -macroglobulin were recorded in the chicken spinal cord, peripheral nerve and blood in response to chemical demyelination with AFOS, a fluororganic compound (O,O-diphenyl-1-acetoxy-2,2,2-trichloroethylphosphonate) having delayed toxicity. Demyelination was confirmed by electron microscopy.

ЛИТЕРАТУРА

1. Johnson M. K. Nature, v. 287, № 2778, p. 105-106, 1980.
2. Таранова Н. П. Вopr. мед. химии, т. 24, № 2, с. 188-192, 1978.
3. Кузьминская У. А., Берсан Л. В., Веремченко Л. М. Гигиена и санитария, № 2, с. 80-81, 1986.
4. Кузьминская У. А., Берсан Л. В., Веремченко Л. М., Шилина В. Ф. Гигиена и санитария, № 10, с. 73-75, 1987.
5. Кузьминская У. А., Дробинская О. В. Гигиена и санитария, № 11, с. 86-88, 1988.
6. Энштейн Э. Белки мозга и спинномозговой жидкости в норме и патологии, М., Мир, 1988.
7. Anson M. L. J. Gen. Physiol., v. 22, p. 79-89, 1938.
8. Полякова Н. М., Белик Я. В., Царюк Л. А. Укр. биохим. журн., т. 32, № 5, с. 623-635, 1960.
9. Веремченко К. И. Кишечная система, Киев, Здоров'я, 1977.

Поступила 14.XII.1989