

БИОХИМИЯ

УДК 577,1527277:612.8.015

**В. А. Шахламов, академик А. А. Галоян, Г. Н. Полякова, А. Г. Ваградян,
М. А. Симонян, М. И. Агаджанов, И. М. Богданова,
В. И. Алтухова, Л. И. Кондакова**

Ультраструктурные эквиваленты алюминиевого токсикоза под влиянием пролин-богатого пептида гипоталамуса

(Представлено 14/XII 2001)

Первые публикации о токсическом действии алюминия на организм человека появились еще в XIX в. Алюминозом называли в то время только профессиональный пневмокониоз. За последние 50 лет взгляды на патогенность алюминия для человека коренным образом изменились [1-16].

Целью настоящего исследования является визуализация на ультраструктурном уровне локализации молекул Al в различных органах млекопитающих (гиппокампе, печени, почках, тонкой кишке и желудке) при воздействии пролин-богатого полипептида (ПБП). А. А. Галояном и его сотр. установлено, что ПБП, продуцируемые в нейросекреторных ядрах гипоталамуса, обладают мощным нейропротекторным и иммуотропными свойствами [12-16]. Данные о влиянии ПБП на активность эффекторных каспаз нейробластомы мышей [16] позволили А. А. Галояну считать, что ПБП может препятствовать развитию нейродегенеративных процессов, в частности, при болезни Альцгеймера. По его предложению были проведены электронно-микроскопические исследования локализации $AlCl_3$ в микроструктурах мозга при введении животным ПБП. Значительный интерес представляли гиппокамп и пирамидальные клетки коры большого мозга.

ПБП был получен методом твердофазного синтеза с использованием *E*-тос аминокислотных дериватов. Опыты были поставлены на 30 беспородных крысах-самцах массой 120.0 г по трем сериям. Животным первой серии (3 крысы, контроль N1) ничего не вводилось. Животным второй серии (2 крысы, контроль N2) ежедневно в течение трех дней вводили внутривентриально по 0.2 мл 10%-ного раствора $AlCl_3$. В третьей серии 5 животным пред-

варительно вводили 0.5 мл раствора, содержащего 1 мл ПБП, на следующий день этим же животным вводили 0.2 мл 10%-ного раствора $AlCl_3$, в третий и четвертый день вновь вводили по 0.2 мл 10%-ного $AlCl_3$.

Животных усыпляли на следующий день после последней инъекции $AlCl_3$, забой проводили под эфирным наркозом, кусочки тканей брали в течение 3 мин из гиппокампа, печени, почек, тонкой кишки и желудка. Ткани фиксировали на холоду 2.5%-ным раствором глютаральдегида на кокадилатном буфере (pH 7.3). После двукратной промывки в течение 24 ч кусочки тканей дофиксировали 1%-ным раствором четырехокси осмия на кокадилатном растворе (pH 7.3) в течение 2 ч и вновь промывали буфером. Кусочки тканей заливали эпон-арамдитом.

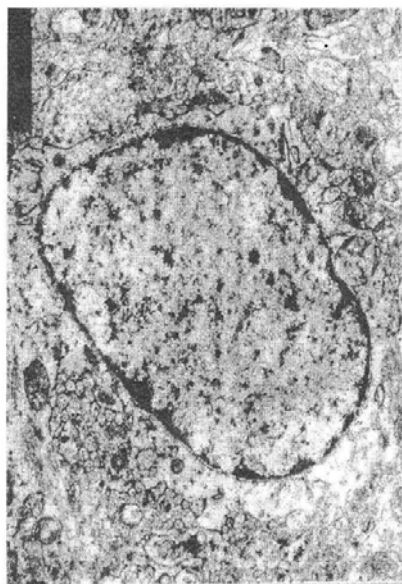
Ультратонкие срезы изучали в электронном микроскопе *JEM* – 100 CX при ускоряющемся напряжении 80 кВ. По данным электронно-микроскопических исследований через 1 ч после внутрибрюшинного введения животным 0.2 мл 10%-ного раствора $AlCl_3$ в гиппокампе были обнаружены отежные нейроны (рис.1,а-с). Одновременно встречались нейроны со светлой и темной текстурой цитоплазмы (рис.2). Через трое суток после ежедневного введения 10%-ного раствора $AlCl_3$ в цитоплазме нейронов гиппокампа встречались нейроны с диффузным распределением отдельных частиц алюминия и нейроны с мелкими глыбками зернистых электронноплотных частиц (рис.3), в некоторых нейронах, кроме этих глыбок, в цитоплазме были обнаружены диффузные проникновения мелкозернистых частиц через ядерную мембрану (рис.4). Обращает на себя внимание тот факт, что некоторые миелиновые нервные волокна сплошь были пропитаны молекулами алюминия (рис. 5).

После предварительного введения ПБП по схеме, предложенной А. Галояном, нам не удалось обнаружить в гиппокампе как нейронов с отеком цитоплазмы и ядра, так и нейронов, содержащих электронноплотные гранулы и крупные включения в цитоплазме или в самом ядре (рис. 6).

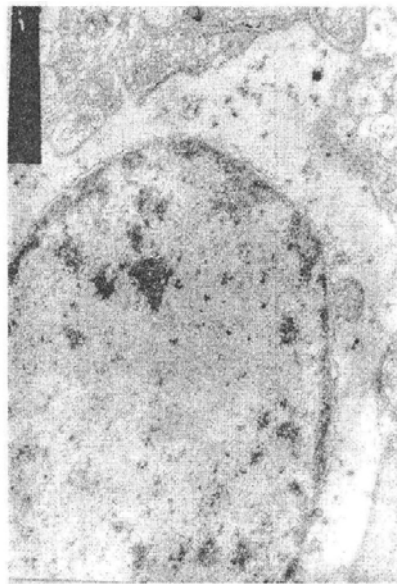
Было установлено, что молекулы алюминия быстро проникают в цитоплазму всасывающих эпителиоцитов тонкой кишки с помощью микропиноцитозных везикул и к третьим суткам обнаруживаются в ядерной оболочке между ее двумя мембранами. В почке в петле Генле между эпителиоцитами в межэпителиальных пространствах также обнаруживались гранулы алюминия. Аналогичная картина выявлена в желудочных железах, а также в печеночных клетках.

В третьей серии опытов в эпителиоцитах печени, почек, тонкой кишки и железах желудка гранул алюминия обнаружено не было.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что алюминий способен проникать в цитоплазму и ядра клеток, где вступает в контакт с ДНК и РНК, в то время как при предварительном введении ПБП в нейронах гиппокампа, пирамидальных клетках коры большого мозга, а также в эпителиоцитах алюминий не обнаруживается.



a



b



c

Рис. 1. Гиппокамп крысы: а- контроль N1. Нейрон. Ув. 10000; б - нейрон через один час после введения 10%-ного $AlCl_3$. Деталь нервной клетки с отежной цитоплазмой и ядром. Ув. 14000; с — тот же препарат. Отечный нейрон через один час после введения $AlCl_3$ Ув, 20000.

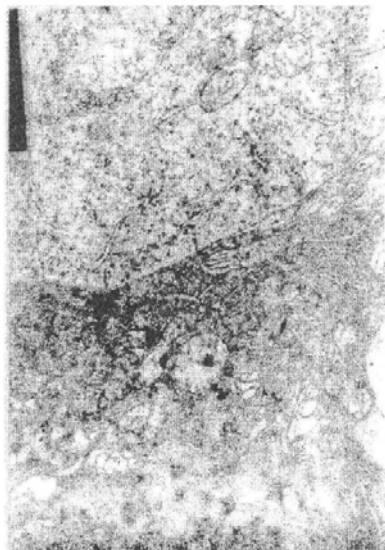


Рис. 2. Гиппокамп крысы через 1ч после введения $AlCl_3$. Деталь смежных нейронов со светлой и темной текстурой цитоплазмы. Я – ядро, Ц- цитоплазма, стрелкой указана граница клеток. Ув. 14000.

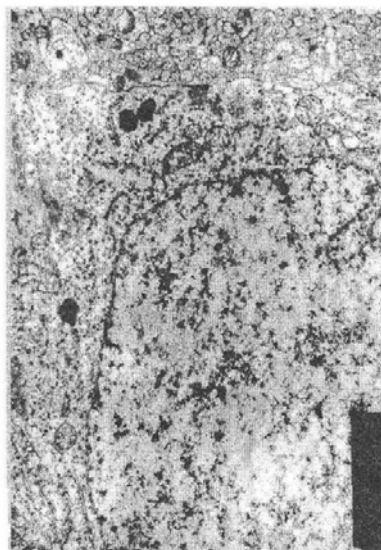


Рис. 3. Гиппокамп крысы. Нейрон после трехкратного введения $AlCl_3$. Электронноплотные тельца в цитоплазме нейрона. Ув. 10000.

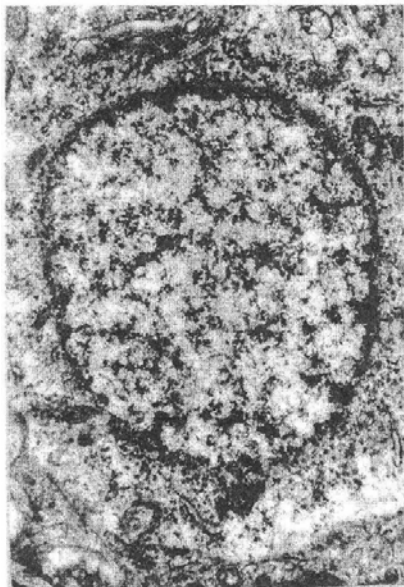


Рис. 4. Гиппокамп крысы после трехкратного введения $AlCl_3$. Диффузное проникновение молекул алюминия сквозь ядерную мембрану. Ув. 10000.

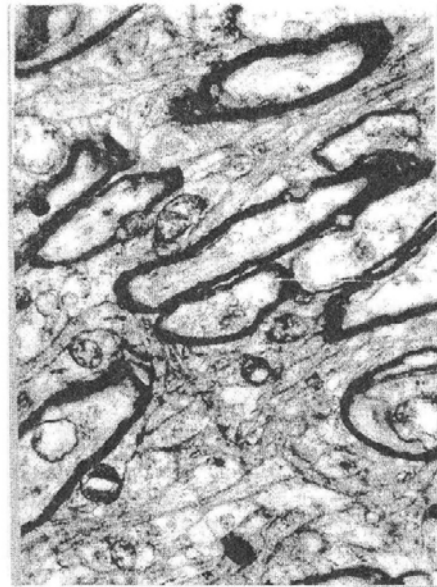


Рис. 5. Гиппокамп крысы после трехкратного введения $AlCl_3$. Молекулы алюминия в миелиновых оболочках нервных волокон. Ув. 10000.

Fig.2

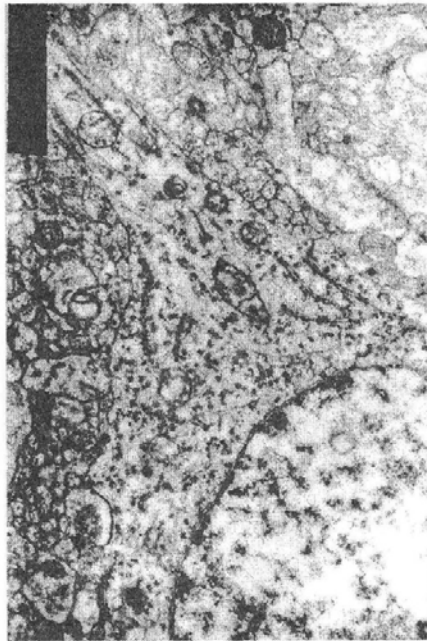


Рис.6. Гиппокамп крысы. Нейрон после предварительного введения ПБП и последующего трехкратного введения $AlCl_3$. Ув. 14000.

Таким образом, гипоталамический ПБП является эффективным средством в борьбе с алюминиевым токсикозом, так как десорбирует молекулы алюминия из всех изученных органов. Изучаются молекулярные механизмы действия ПБП.

НИИ морфологии человека РАМН

Институт биохимии им. Г. Х. Бунятына НАН РА

Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци

**Վ. Ա. Շախլամով, ակադեմիկոս Ա. Ա. Գալոյան, Գ. Ն. Պոլյակովա,
Հ. Գ. Վահրադյան, Մ. Ա. Սիմոնյան, Մ. Ի. Ադաջանով, Ի. Մ. Բոգդանովա,
Վ. Ի. Ալտուխովա, Լ. Ի. Կոնդակովա**

Ալյումինային տոքսիկոզի ուլտրակառուցվածքային համարժեքները հիպոթալամուսի պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի ազդեցության ներքո

0,2 մլ 10% ալյումինի ($AlCl_3$) լուծույթի ներարկումից հետո առնետների հիպոկամպի և գլխուղեղի կեղևի պիրամիդային բջիջներում դիտվում է նեյրոնների այտուցում, որոշ նեյրոններում նկատվում է ալյումինի մասնիկների առկայություն, ինչպես նաև

ալյումինի թափանցում բջջի կորիզ: Նյարդաթելերի միելինային թաղանթները ամբողջությամբ լցված են ալյումինի մոլեկուլներով:

Պրոլինոլ հարուստ պոլիպեպտիդի նախնական ներարկումից հետո (100-200 մգ) առնետների ուղեղի նշված նեյրոններում էլեկտրոնային միկրոսկոպիկ հետազոտությամբ ալյումինի մոլեկուլների առկայություն չի նկատվում: Հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ ալյումինի մոլեկուլները միկրոպինոցիտոզային վեզիկուլների միջոցով թափանցում են էպիթելիոցիտների ցիտոպլազմա և ապա՝ բջջային կորիզ: Համանման պատկեր է դիտվում երիկամներում և ստամոքսի գեղձերում: Պեպտիդի նախնական ներարկումից մեկ օր հետո ալյումին ներարկելիս ուղեղի բջիջներում, սպիններում, երիկամներում, ինչպես նաև ստամոքսի գեղձերում այլևս ալյումինի կուտակումներ չեն նկատվում:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ պրոլինոլ հարուստ պոլիպեպտիդը կարող է մեծ դեր խաղալ ալյումինային տոքսիկոզի բուժման համար:

Литература

1. *Авцын А. П., Жаворонков А. А., Руш М. А., Строчкова Л. С.* Микроэлементозы человека. М. Медицина. 1991.
2. *Авцын А. П.* - Арх. пат. 1986. N5. С. 1-10.
3. *Авцын А. П.* - Клин. мед. 1987. N6. С. 36.
4. *Crapper D. R., Karlik S., De Boni.* Aluminium and other metals in senile (Alzheimer) demenzia. Alzheimer's disease: senile dementia and related disorders. Ed. R. Katrman et al. N. Y. 1978. P. 471-485.
5. *Crapper-McLachlan D. R., De Boni U.* - Neurotoxicology (Park Forest, II) 1981. V.1. P. 3-16.
6. *Alfrey A. C., Le Gendre G. K., Kaehny W. D.* - New Engl. J. Med. 1976. Y. 294. P. 184-188.
7. *Hodsman A. B., Sherrad D. J., Alfrey A. C. et al* - J.Clin. Endocr. 1982. V. 54. P. 539-545.
8. *Lahl R., Lange U.* 1979. Цит. по *Авцын А. П. и др.* Микроэлементозы человека. М. Медицина. 1991.
9. *Wisniewski H. M., Yghal K., Dermott J. R.* - Neurotoxicology (Park Forest, II). 1980. V. 1. P. 121-124.
10. *Полякова Г. П. и др.* В кн.: Сб. науч. трудов НИИ морфологии человека АМН СССР. 1990. С. 63-67.
11. *Neill D., Leake A., Haghes D. et al.* - J. Neurochem. Res. 1996. V. 46. P. 395-403.
12. *Galoyan A. A.* Biochemistry of Novel Cardioactive Hormones and im-munomodulators of the Functional system Neurosecretory Hypothalamus. Endocrine heart 1997. "Nauka" publishers, Moscow, 242 p.
13. *Galoyan A. A.* - Neurochem. Res. 2001. V. 25. N 9/10. P. 1343-1355.

14. *Galoyan A. A., Kipriyan T. K., Sarkissian J. S., Sarkissian E. J., Grigorian Y. Kh., Andreasian A. S., Chavushyan E. A.* - Neurochemical Research. V.25. N6. P. 791-800.
15. *Galoyan A. A., Sarkissian J. S., Kipriyan T. K., Sarkissian E. J., Chavushyan E. A., Sulkhanyan R. M., Meliksetyan I. B., Abrahamyan S. S., Grigorian Y. Kh., Avetisyan Z. A, Otieva N. A.* - Neurochem. Res. 2001. V.26. N8. P, 1023-1038.
16. *Galoyan A. A., Terio N., Berg. M., Maarks N.* - Neurochemistry RAS and NAS. 2000. V. 17. N3. P. 185-188.