

УДК 616.36+615.778+613.632+615.917:678

Л. М. МЕЖЛУМЯН, Н. Д. ВАРТАЗАРЯН

АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ДИХЛОРБУТЕНА

Одной из профессиональных вредностей, встречающихся в производстве ацетиленового синтетического каучука, является 1,3-дихлорбутен-2 (дихлорбутен). Последний образуется в процессе гидрохлорирования моновинилацетилена как побочный продукт и является исходным материалом для получения гербицида кротиленна.

По химической структуре дихлорбутен относится к группе непредельных хлорированных углеводов. Это бесцветная жидкость с удельным весом 1,151 (20°C), с резким, неприятным запахом, температурой кипения 127—129, в воде не растворяется, но хорошо растворяется в органических растворителях (бензол, бензин, ацетон, спирт и др.).

По данным В. В. Закусова [1], Р. С. Стародубской [7], Э. Е. Мхеяна [3], Г. И. Мирзабекяна [2], С. А. Петросяна [4] и др., дихлорбутен, по сравнению с другими органическими ядами, встречающимися в производстве ацетиленового синтетического каучука, обладает наибольшей токсичностью. В течение последних 10—15 лет на кафедре гигиены труда Ереванского медицинского института было проведено всестороннее изучение его действия на организм животных. Частью этих исследований являлось изучение действия дихлорбутена на функциональное состояние печени.

Известно, что печень часто страдает при отравлениях различными химическими веществами, поэтому изучение ее функционального состояния в эксперименте, наряду с изучением морфологических и гистохимических изменений, в промышленной токсикологии имеет большое практическое значение.

В последние годы в диагностике патологии печени большое значение приобретает изучение активности некоторых ферментов сыворотки крови. Изменение активности ферментов в крови является весьма существенным критерием для оценки структурной целостности и проницаемости гистогематических барьеров органа. Одним из ферментов, по степени активности которого можно судить о функциональном состоянии печеночных клеток, является щелочная фосфатаза [5, 8]. Исходя из этого, мы изучали в эксперименте активность щелочной фосфатазы биохимиче-

ским (в сыворотке крови и печеночной ткани) и гистохимическим методами при воздействии дихлорбутена на организм животных.

Влияние дихлорбутена на активность фермента было изучено в 3 сериях опытов на взрослых белых крысах (самках и самцах). Затравка животных производилась путем ингаляции в затравочных камерах емкостью 750 л динамическим методом с ежедневной четырехчасовой экспозицией.

Первая серия опытов (острые)—3 группы белых крыс (весом 180—240 г) по 10 животных в каждой группе подвергались однократному воздействию дихлорбутена в концентрациях 3 мг/л, 1 мг/л и 0,5 мг/л. В качестве контроля служили 10 интактных крыс. Непосредственно после затравки животные обезглавливались и для исследования брались кровь и печень. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови и в гомогенате печени определяли по методу Боданского [9].

В результате исследования выявлено повышение активности щелочной фосфатазы, причем достоверное повышение активности фермента было обнаружено в гомогенате печени, в то время как в сыворотке крови она оказалась в пределах нормы (табл. 1).

Таблица 1
Активность щелочной фосфатазы (мг %) в сыворотке крови и в печеночной ткани белых крыс, подвергавшихся однократному воздействию 1,3-дихлорбутен-2

Группа животных	Концентр. яда в мг/л	Сыворотка крови	Гомогенат печени	p
Контроль	—	$M \pm m$ $2,37 \pm 0,2$	$M \pm m$ $4,75 \pm 0,4$	
I	3	$2,55 \pm 0,22$	$6,12 \pm 0,25$	$< 0,02$
II	1	$2,51 \pm 0,25$	$6,1 \pm 0,4$	$< 0,05$
III	0,5	$2,4 \pm 0,2$	$4,79 \pm 0,39$	

Микроскопические исследования препаратов печени, окрашенных по методу Гомори, показали, что активность фермента в клетках периферии печеночных долек выражена значительно больше, по сравнению с печеночными клетками, находящимися вокруг центральной вены, где фермент выявлялся диффузно. Количество фермента в цитоплазме невелико. Значительная активность его наблюдалась в ядрах, особенно в ядрышках. Высокая активность фермента выявлялась в купферовских клетках, ядра которых окрашивались в интенсивно черный цвет. Одновременно наблюдалось значительное повышение активности фермента в капиллярах, особенно в эндотелиальных клетках ветвей печеночной артерии, а также в эпителии желчных протоков. Повышенная ферментативная активность наблюдалась также в очагах некробиоза, где фермент появлялся в виде черной мелкозернистой массы.

Вторая серия опытов (повторные) была поставлена на трех группах белых крыс весом 140—180 г по 40 животных в каждой группе (столько же в контроле). Подопытные животные подвергались воздействию

дихлорбутена в концентрациях 0,5 мг/л, 0,2 мг/л, 0,1 мг/л в течение 45 дней. Активность фермента в крови и в печени животных при концентрации яда 0,5 мг/л определяли на I, II, III, IV и VI неделях затравки, а при концентрации 0,2 и 0,1 мг/л—на II, IV и VI неделях после их обезглавливания (каждый раз 7 животных). Полученные данные приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, достоверное повышение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови и печени наблюдалось только при воздействии яда в концентрации 0,5 мг/л. Повышение активности фермента в гомогенате печени отмечалось с третьей недели затравки, а в сыворотке крови—с конца четвертой недели. Эти изменения наблюдались в течение всего опыта.

При морфо-гистохимическом исследовании печени на VI неделе затравки отмечалось диффузное увеличение активности фермента щелочной фосфатазы в клетках вокруг центральных вен в виде зерен, а также в кровеносных и в желчных капиллярах (рис. 1).

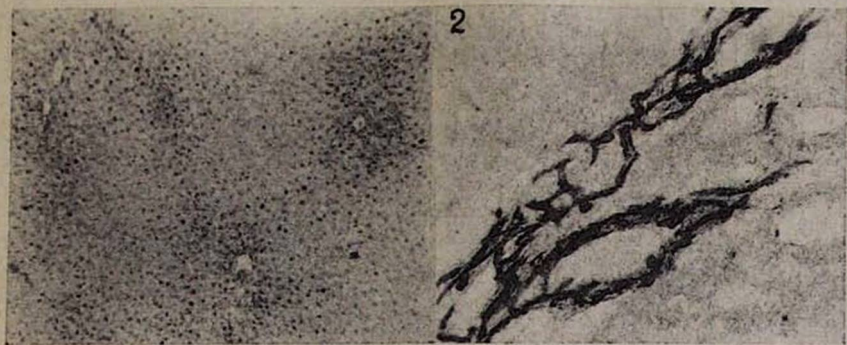


Рис. 1. 1. Увеличение активности щелочной фосфатазы в ядрах клеток вокруг центральной вены. Об. $\times 90$, ок. $\times 10,0$. 2. Увеличение активности фермента в эндотелии капилляров междольковой соединительной ткани. Об. $\times 20$, ок. $\times 10,0$.

Третья серия опытов (хронические) была поставлена на двух группах белых крыс (весом 140—160 г) по 56 животных в каждой группе. Животные подвергались воздействию яда в концентрации 0,2 и 0,1 мг/л в течение 5 мес. В контрольную группу входило 56 животных. Данные приведены в табл. 3.

Как видно из таблицы, при концентрации 0,2 мг/л повышение активности фермента в сыворотке крови отмечалось начиная с 1,5 мес. В гомогенате печени в первые 2 мес. наблюдалось незначительное повышение активности фермента, затем на протяжении III и IV мес. активность его снизилась и к концу затравки приблизилась к контрольным данным.

При морфо-гистохимическом исследовании печени на II мес. затравки сравнительно высокая активность фермента наблюдалась в ядрах купферовских клеток в стенках капилляров. Значительное повышение активности фермента определялось в основном в капиллярах междоль-

Активность щелочной фосфатазы (в мг %) в сыворотке крови и в ткани печени у белых крыс при повторном отравлении их 1,3-дихлорбутен-2

Группа животных	Концентрация в мг/л	Стат. критер.	Фон		I неделя		II неделя		III неделя		IV неделя		VI неделя	
			сыворотка	гомогенат	сыворотка	гомогенат	сыворотка	гомогенат	сыворотка	гомогенат	сыворотка	гомогенат	сыворотка	гомогенат
Контроль		M	2,78	4,7	2,53	4,23	3,24	5,1	2,9	4,68	2,4	4,06	2,7	4,44
		±m	0,15	0,23	0,31	0,4	0,39	0,28	0,27	0,39	0,33	0,37	0,31	0,37
I	0,5	M	2,28	4,16	2,18	4,1	2,9	4,45	3,25	6,84	5,4	7,04	6,7	8,55
		±m	0,3	0,37	0,1	0,25	0,23	0,39	0,6	0,42	0,49	0,37	0,39	0,37
		p								<0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
II	0,2	M	2,63	5,23	—	—	2,25	4,76	—	—	2,4	4,8	3,03	5,28
		±m	0,13	0,26	—	—	2,23	0,46	—	—	0,11	0,16	0,28	0,35
III	0,1	M	2,5	4,75	—	—	2,49	4,8	—	—	2,48	4,9	2,45	4,86
		±m	0,26	0,47	—	—	0,29	0,47	—	—	0,23	0,46	0,23	0,41

Активность щелочной фосфатазы (в мг %) в сыворотке крови в ткани печени и белых крыс при хроническом отравлении их 1,3-дихлорбутен-2

Группа животных	Концентрация в мг/д	Стат. критерий	Фон		II неделя		1 мес.		1,5 мес.		2 мес.		3 мес.		4 мес.		5 мес.	
			сыво-ротка	гомогенат	сыво-ротка	гомогенат	сыво-ротка	гомогенат	сыво-ротка	гомогенат	сыво-ротка	гомогенат	сыво-ротка	гомогенат	сыво-ротка	гомогенат	сыво-ротка	гомогенат
Контроль		M ±m	2,34 0,29	4,6 0,49	2,3 0,24	4,7 0,41	2,23 0,26	4,98 0,37	2,16 0,25	5,03 0,36	2,26 0,31	4,46 0,46	2,4 0,24	4,63 0,49	2,4 0,23	4,75 0,46	2,36 0,22	4,72 0,41
I	0,2	M ±m	2,63 0,13	5,23 0,23	2,25 0,23	4,76 0,46	2,4 0,11	4,8 0,16	3,03 0,28	5,28 0,35	5,54 0,49	5,23 0,35	4,16 0,42	2,74 0,35	5,0 0,46	2,6 0,23	6,13 0,35	4,5 0,346
II	0,1	p M ±m p	— 2,51 0,26	— 4,75 0,47	— 2,49 0,29	— 4,8 0,47	— 2,48 0,23	— 4,9 0,46	<0,05 2,45 0,23	— 4,86 0,41	<0,001 2,46 0,19	— 4,3 0,44	<0,01 2,75 0,31	<0,02 4,35 0,49	<0,001 2,73 0,25	<0,002 5,1 0,41	<0,001 3,4 =0,05	— 4,85 0,52 —

ковой соединительной ткани, преимущественно вокруг триады (рис. 1, 2). В конце III мес. отмечалось резкое уменьшение активности фермента как в печеночных клетках, так и в капиллярах и в сосудах печени. Заметную активность фермента удастся выявить только в ядрах купферовских клеток. В конце IV мес. также наблюдалось уменьшение активности щелочной фосфатазы в купферовских клетках. К концу опыта имело место частичное восстановление ферментативной активности в ядрах печеночных клеток, приближающееся к контролю.

У животных, подвергшихся воздействию дихлорбутена в концентрации 0,1 мг/л, в печени существенных изменений в активности фермента не было отмечено, а в сыворотке крови (к концу опыта) отмечалось достоверное повышение его активности.

При морфо-гистохимическом исследовании печени изменения активности щелочной фосфатазы выражены слабо и уже на IV и V мес. наблюдалось полное восстановление активности в ядрах паренхиматозных и купферовских клеток. Одновременно наблюдалась его высокая активность в эпителии желчных протоков (рис. 2), что свидетельствует об адаптации организма к хроническому воздействию малых доз дихлорбутена.

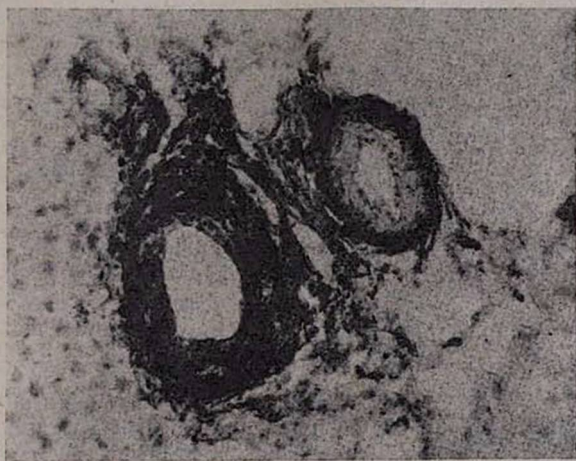


Рис. 2. Высокая активность щелочной фосфатазы в эпителии желчных протоков и в адвентиции артерии. Об. $\times 20$, ок. $\times 15$.

Таким образом, на основании данных биохимических, морфогистохимических исследований можно заключить, что дихлорбутен в концентрациях 3 мг/л, 1 мг/л, 0,5 мг/л, 0,2 мг/л и 0,1 мг/л вызывает изменение активности щелочной фосфатазы в ядрах паренхиматозных элементов печени, в купферовских клетках, а также в эндотелии кровеносных и желчных капилляров и в сыворотке крови. Эти данные, наряду с результатами наших предыдущих исследований по пигментному, липидному и углеводному обмену, достаточно полно показывают, что ди-

хлорбутеновое отравление в эксперименте приводит к тяжелому поражению печени.

В ы в о д ы

1. Однократное воздействие дихлорбутена в больших концентрациях (3 мг/л и 1 мг/л) вызывает повышение активности фермента щелочной фосфатазы в гомогенате печени, который при гистохимическом исследовании обнаруживается в ядрах паренхиматозных элементов печени, в купферовских клетках и в эндотелии капилляров. В сыворотке крови активность фермента была в пределах нормы.

2. При повторном воздействии дихлорбутена в концентрации 0,5 мг/л обнаружено повышение активности фермента как в сыворотке крови, так и в печени.

3. При хроническом воздействии яда в концентрации 0,2 мг/л отмечается двухфазное изменение активности фермента, которое характеризуется первоначальным небольшим повышением, затем понижением его активности в печеночных клетках. В сыворотке крови отмечается повышение активности фермента, которое продолжалось до конца опыта. При концентрации 0,1 мг/л изменения слабо выражены, но к концу опыта в сыворотке крови отмечалось достоверное повышение активности фермента.

4. Степень активности фермента и характер его изменений находятся в прямой зависимости от концентрации яда и длительности воздействия его на организм животных.

Кафедра гигиены труда,

Кафедра патологической анатомии
Ереванского медицинского института

Поступило 3/IV 1970 г.

Լ. Ն. ՄԵԺԼՈՒՄՅԱՆ, Ն. Դ. ՎԱՐՏԱԶԱՐՅԱՆ

ԴԻՔԼՈՐԲՈՒԹԵՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ՇԻՃՈՒԿԻ
ԵՎ ԼՅԱՐԴԻ ՀԻՄՔԱՅԻՆ ՖՈՍՖԱՏԱԶՄԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո ս ւ մ

Դիքլորբութենի ազդեցության պայմաններում (միանվագ, կրկնվող և երկարատև) ուսումնասիրվել է հիմքային ֆոսֆատազայի ակտիվությունը առնետների արյան շիճուկում և լյարդում:

Թույնի բարձր կոնցենտրացիաների (3 և 1 մգ/լ) միանվագ ազդեցությունից լյարդում առաջանում է ֆերմենտի ակտիվության բարձրացում, որը նույն ժամանակամիջոցում արյան շիճուկում չի նկատվում:

Դիքլորբութենի 0,5 մգ/լ կոնցենտրացիայից (կրկնվող փորձեր) առնետների արյան շիճուկում և լյարդում բարձրանում է հիմքային ֆոսֆատազայի ակտիվությունը:

Թուլնի երկարատև ազդեցությունից (0,2 և 0,1 մգ/լ) առնետների արյան շիճուկում առաջանում է ֆերմենտի ակտիվության բարձրացում, իսկ լյարդում՝ երկֆազ փոփոխություն՝ սկզբում բարձրացում, ապա իջեցում:

Այսպիսով, ֆերմենտի ակտիվության փոփոխման բնույթն ու աստիճանը կախված են թուլնի քանակից, և թե օրգանիզմի վրա նրա ունեցած ազդեցության տևողությունից:

Այս տվյալները, մեր նախորդ հետազոտություններում ստացված պիզմենտային, ածխաջրատային և խոլեստերինային փոխանակությունների արդյունքների հետ միասին, ցույց են տալիս, որ դեբիորբոթենով թունավորելիս, փորձարկվող կենդանիների մոտ առաջանում է լյարդի ծանր ախտահարում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Закусов В. В. В кн.: Экспериментальные исследования по промышленным ядам. М., 1936, стр. 114.
2. Мирзабекян Г. И. Материалы II съезда гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов Арм. ССР. Ереван, 1968, стр. 81.
3. Мхелян Э. Е. Сборник трудов Минздрава Арм. ССР, в. II. Бюро главной судебно-медицинской экспертизы. Ереван, 1957.
4. Петросян С. А. Материалы II съезда гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов Арм. ССР. Ереван, стр. 66.
5. Петрунькина А. М. Практическая биохимия. Л., 1961.
6. Предтеченский В. Е. Руководство по климатическим лабораторным исследованиям. М., 1960.
7. Стародубская Р. С. В кн.: Экспериментальные исследования по промышленным ядам. М., 1936, стр. 134.
8. Тодоров И. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София, 1962.
9. Bodansky A. J. Biol. chem., 1933, 101, 1, 93.