

© Бондарева А. В.

УДК: 577.152.1:616.36-092.9-099:543.385

Бондарева А. В.

ДИХАЛЬНА ТА РЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ У МІКРОСОМНІЙ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОЛІГОЕФІРІВ БАГАТОАТОМНИХ СПИРТІВ

Харківський національний медичний університет (м. Харків)

bondareva.alla@i.ua

Робота є фрагментом НДР «Біохімічні механізми розвитку дисметаболических процесів за умов впливу хімічних чинників навколишнього середовища» (№ державної реєстрації 0115U000240).

Вступ. Дослідження механізмів розвитку патологічних процесів за умов дії на організм ксенобіотиків є актуальним напрямком сучасної науки [3,9,19]. До числа широко розповсюджених ксенобіотиків відносяться олігоефіри багатоатомних спиртів технічної назви «Лапроли» (ОЕФ-ЛП), які характеризуються досить значними об'ємами синтезу, широким використанням у різних галузях народного господарства (як основа промислового випуску пластмас, пінополіуретанів, лакофарбних матеріалів, миючих засобів, гідравлічних та охолоджуючих речовин тощо), надходженням до джерел питного водопостачання населення та завдяки цьому можливим впливом на здоров'я людини [1,4]. У процесі еволюції сформувалися певні способи адаптації організму до дії ксенобіотиків, провідну роль серед яких відіграють біохімічні механізми їх знешкодження [8,11,12,21]. Останні, як правило, пов'язані з функціонуванням монооксигеназної системи (МОС) гладкого ендоплазматичного ретикулула. До характерних особливостей МОС відносять її здатність до індукції за умов дії багатьох екзо- та ендогенних сполук [14,20], а також органна та тканинна специфічність, видова та індивідуальна варіабельність [10,17]. У мікросомній мембрані гепатоцитів локалізовані дві ферментні системи, що окиснюють NADPH_2 і NADH_2 , NADPH -залежна система діє з цитохромом P-450 як кінцевою ланкою, NADH -система – з цитохромом b_5 як акцептором електронів. Цитохром b_5 може брати участь у процесах гідроксильовання, виконуючи роль донора електронів для цитохрому P-450 [6]. Крім того МОС є істотним джерелом утворення активних форм кисню [18,23]. У мікросомних мембранах показано існування двох систем перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ): ферментної та неферментної [2]. Фермент NADPH -цитохром с-редуктаза є початковою ланкою і в реакціях гідроксильовання, і у процесах ПОЛ. У деяких випадках донором протонів та електронів може бути й NADH [5]. Визначено, що активація МОС може призвести до розвитку оксидативного стресу [13,22]. Порушення у МОС гепатоцитів за дії токсичних хімічних сполук є однією з причин розбалансування гомеостазу, розвитку патологічних процесів. Стан цього питання за умов тривалого впливу нових представників ОЕФ-ЛП вивчено недостатньо, а саме його урахуван-

ня є необхідним для всебічного розкриття механізмів біологічної дії та розроблення засобів їх корекції.

Мета дослідження – оцінити вплив олігоефірів багатоатомних спиртів технічної назви «Лапроли» марок 502 і 503 у дозах 1/10 і 1/100 ЛД50 на швидкість споживання кисню та NAD(P)H -залежну редуктазну активність у мікросомній фракції печінки щурів.

Об'єкт і методи дослідження. У роботі використано зразки ОЕФ-ЛП марок 502 (поліоксипропіленгліколь) і 503 (поліоксипропілентриол) з регламентованими фізико-хімічними характеристиками. Експерименти проведено на статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar вагою 180-220 г. Утримання та маніпуляції над тваринами виконувались відповідно до основних принципів біоетики. Тварин піддавали пероральній затравці за допомогою зонда водними розчинами речовин щоденно одноразово протягом 45 діб у дозах 1/10 і 1/100 LD50. Середньолетальні дози (LD50) становили для ОЕФ-ЛП-502 – 1,83 г/кг; ОЕФ-ЛП-503 – 21,3 г/кг маси. Тваринам контрольної групи вводили відповідні об'єми питної води. Дослідження показників проводили у динаміці спостереження: на 15, 30, 45-ту добу після початку експерименту. У кожній групі було по 10 тварин. Щурів декапітували, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію у дозі 50 мг/кг маси. Виділення субклітинних фракцій печінки щурів проводили диференційним центрифугуванням. Для отримання гомогенату наважку тканини подрібнювали на холоді, гомогенізували протягом 1-2 хв. за допомогою скляного гомогенізатору Поттера з тефлоновим товчачиком в охолодженому середовищі виділення (0,25 М розчин сахарози, який готували на 0,01 М трис- HCl буфері, pH-7,4 з додаванням 1 мМ ЕДТА). Співвідношення тканина/середовище становило 1г/9 мл. Швидкість споживання кисню оцінювали за допомогою закритого платинового кисневого електроду Кларка полярографічним методом [7]. Редуктазну активність мікросом визначали шляхом визначення зміни поглинання акцептора електронів цитохрому с при переході з окисленої форми у відновлену [7]. Інкубаційна суміш для визначення NAD(P)H -цитохром с-редуктазних активностей містила 100 мкМ NAD(P)H , 50 мкМ цитохром с, 330 мкМ NaCN , 100 мМ трис- HCl буфер (pH 7,4), 40 мкг білка мікросом при використанні як субстрату NADPH і 15 мкг – як субстрату NADH . Загальний об'єм інкубаційної суміші становив 3 мл. Вимірювання швидкості відновлення цитохрому с проводили на двопробеному спектрофотометрі «Specord UV VIS» при 30°C і довжині хвилі 550 нм.

Активність редуказ розраховували за допомогою коефіцієнта молярної екстинкції цитохрому с, що становив $18,5 \times 10^3 \text{ см}^{-1} \text{ M}^{-1}$. Порівняння середніх величин у вибірках з нормальним розподілом проводили за допомогою t-критерію Стьюдента. За критичний рівень значущості приймали $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. На 15-ту добу експерименту спостерігали статистично значуще ($p < 0,05$), по відношенню до контролю, підвищення швидкості споживання кисню мітросомами печінки щурів при додаванні NADH на 55 і 59% відповідно за дії ОЕФ-ЛП-502 і ОЕФ-ЛП-503 у дозі 1/10 LD50 (табл. 1).

Аналогічна динаміка змін, але більш суттєва, виявлена й у випадку додавання NADPH у цей термін спостереження: на 141% при дії ОЕФ-ЛП-503, на 104% при дії ОЕФ-ЛП-503. На 30-ту добу реєстрували протилежну динаміку змін швидкості споживання кисню мітросомами. Так, ОЕФ-ЛП-502 у дозі 1/10 LD50 викликав, порівняно з контролем, її зниження ($p < 0,05$) при додаванні NADH в середньому на 36% і NADPH – на 39%. Для ОЕФ-ЛП-503 у дозі 1/10 LD50 ці зміни менш виразні: в середньому на 18 і 34% відповідно при присутності екзогенних NADH і NADPH. На 45-ту добу речовини у дозі 1/10 LD50 призводили до значного зниження дихальної активності мітросом. Вплив ОЕФ-ЛП-502 зменшував ($p < 0,05$), при порівнянні з контролем, швидкість споживання кисню у присутності NADH і NADPH відповідно на 56 і 50%, вплив ОЕФ-ЛП-503 – на 34 і 42%.

На 15-ту добу дії речовин у дозі 1/100 LD50 також спостерігали статистично значуще ($p < 0,05$), порівняно з контролем, підвищення швидкості споживання кисню мітросомами гепатоцитів щурів при додаванні NADH і NADPH: у випадку ОЕФ-ЛП-502 – в середньому на 68 і 113%, а у випадку ОЕФ-ЛП-503 – на 81 і 97% відповідно (табл. 1). Речовини у цей термін спостереження у дозі 1/100 LD50 стимулювали дихальну активність мітросом більш виразно, ніж у дозі 1/10 LD50. На 30-ту добу впливу речовин у дозі 1/100 LD50 також

відзначали підвищення споживання кисню мітросомами: для ОЕФ-ЛП-502 на 41 і 59%, а ОЕФ-ЛП-503 – на 44 і 30% відповідно при внесенні екзогенних NADH і NADPH. На 45-ту добу речовини викликали зниження дихальної активності мітросом в середньому на 34 і 27% за дії ОЕФ-ЛП-503 та ОЕФ-ЛП-502.

Отримані результати свідчать про біохімічні порушення процесів знешкодження у печінці щурів, перш за все, у МОС. Інгібування останньої за умов тривалого впливу може призвести до порушення роботи її електрон-транспортних ланцюгів, появи реакційноздатних метаболітів, неповного відновлення кисню. Підвищення дихальної активності мітросом печінки щурів (15-та доба при дії 1/10 LD50; 15 і 30-та доба при дії 1/100 LD50) є, перш за все, адаптивною реакцією організму на введення речовин. Але доведено, що активація МОС є небезпечним, так як механізм її хімічних реакцій пов'язаний з утворенням проміжних активних метаболітів, здатних чинити у клітині негативні ефекти шляхом модифікації макромолекул, порушення проникності мембран, підвищення реакцій пероксидації ліпідів [5]. Пошкоджувальну дію чинять не тільки побічні продукти гідроксилювання, але й обов'язкові проміжні інтермедіати основного каталітичного циклу [9]. Саме зниження дихальної активності мітросом гепатоцитів за умов тривалого впливу ОЕФ-ЛП-502 і ОЕФ-ЛП-503 може бути викликано наведеними вище причинами. Для підтвердження висунутих припущень оцінили їх редуказну активність.

На 15-ту добу дії ОЕФ-ЛП-502 у дозі 1/10 LD50 відзначали статистично значуще ($p < 0,05$), по відношенню до контролю, підвищення NADPH- і NADH-залежної редуказної активності мітросом гепатоцитів щурів відповідно на 82 і 48% (табл. 2). Для ОЕФ-ЛП-503 у цей термін спостереження зберігалася аналогічна тенденція змін, але менш виразна – в середньому на 50 і 19%.

Динаміка змін активності ферментів на 30-ту добу дії речовин у дозі 1/10 LD50 виявлена різноспрямованою. Так, ОЕФ-ЛП-502 і ОЕФ-ЛП-503 викликали,

Таблиця 1.

Швидкість споживання кисню у мітросомах печінки щурів за умов впливу олігоферів багатоатомних спиртів технічної назви «Лапроли» марок 502 і 503

Речовина	Швидкість споживання кисню з додаванням NADH, нмоль O ₂ /хв·мг білка			Швидкість споживання кисню з додаванням NADPH, нмоль O ₂ /хв·мг білка		
	доба спостереження					
	15	30	45	15	30	45
Контроль	1,32±0,155	1,40±0,109	1,31±0,081	2,98±0,120	3,25±0,124	3,11±0,225
доза 1/10 LD50						
ОЕФ-ЛП-502	2,04±0,069*	0,90±0,067*	0,57±0,073*	7,18±0,544*	1,98±0,093*	1,55±0,096*
ОЕФ-ЛП-503	2,10±0,273*	1,15±0,163	0,87±0,054*	6,09±0,492*	2,15±0,270*	1,80±0,140*
доза 1/100 LD50						
ОЕФ-ЛП-502	2,27±0,156*	1,97±0,086*	0,99±0,082*	6,36±0,492*	5,17±0,477*	1,81±0,078*
ОЕФ-ЛП-503	2,39±0,195*	2,01±0,172*	1,16±0,099	5,86±0,496*	4,22±0,294*	2,32±0,230*

Примітка: * – $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

порівняно з контролем, зниження ($p < 0,05$) NADPH-залежної редуказної активності мікросом відповідно на 42 і 33%. На тлі таких результатів реєстрували підвищення ($p < 0,05$) NADH-залежної редуказної активності на 62 і 31% відповідно для ОЕФ-ЛП-502 і ОЕФ-ЛП-503. На 45-ту добу ОЕФ-ЛП-502 і ОЕФ-ЛП-503 у 1/10 LD50 викликали зниження NADPH-редуктази на 54 і 44%, а NADH-редуктази на 45 і 33%. Що стосується 1/100 LD50, то на 15-ту добу експерименту спостерігали, відносно контролю, підвищення ($p < 0,05$) активності NADPH- і NADH-залежних редуказ в середньому на 56 і 21% для ОЕФ-ЛП-502, на 40 і 14% для ОЕФ-ЛП-503 (табл. 2). Аналогічно, але менш виразну динаміку змін визначали й на 30-ту добу: збільшення NADPH-залежної редуказної активності мікросом на 41 і 21% відповідно за дії ОЕФ-ЛП-502 і ОЕФ-ЛП-503 у дозі 1/100 LD50, NADH-залежної – на 49 і 33%. Протилежні зміни реєстрували на 45-ту добу, речовини у дозі 1/100 LD50 інгібували ферментативну активність мікросом. Найбільш суттєвим це було за дії ОЕФ-ЛП-502 – зниження NADPH- і NADH-залежної редуказної активності відповідно на 35 і 33% (для ОЕФ-ЛП-503 – на 29 і 24%).

Зниження редуказної активності у мікросомній фракції гепатоцитів щурів при тривалому введенні ОЕФ-ЛП-502 і ОЕФ-ЛП-503 може бути зумовлено: по-перше, порушенням ліпідного оточення ферментів; по-друге, зниженням пулу відновлених еквівалентів; по-третє, внаслідок окиснення активними формами кисню, що обмежує швидкість транспорту електронів по гідроксилазних редокс-ланцюгах, зокрема на цитохром P450 у випадку зниження активності NADH-цитохром b5 редукази [6]. У всіх випадках це свідчить про порушення роботи мікросомних електрон-транспортних ланцюгів. Виявлене підвищення ферментативної активності мікросом є, перш за все, захисно-приспосувальною реакцією організму на введення ксенобіотиків. Але збільшення редуказної активності мікросом сприяє, з одного боку, збільшенню потоків електронів з відновлених NADH і NADPH відповідно

на цитохроми b5 і P450, а з іншого – підвищенню утворення активних форм кисню [15, 16].

Виявлене збільшення дихальної та редуказної активності мікросом печінки щурів на 15-ту добу спостереження при дії речовин у дозах 1/10 і 1/100 LD50 є адаптивною реакцією. Але активація МОС сприяє як підвищенню детоксикації досліджуваних речовин, так й активації вільнорадикальних процесів. Можна припустити, що ПЕФ можуть окиснюватися у мікросомах печінки щурів з утворенням вільних радикалів, які ініціюють процеси пероксидації ліпідів з наступною деструкцією мембранних структур гепатоцитів, а також порушенням функціональної активності локалізованих в них ферментних систем знешкодження ксенобіотиків. Отримані результати корелюють із даними інших праць у частині активації процесів перекисного окислення ліпідів у щурів за умов 30-денної токсифікації інших представників ПЕФ [1].

Висновки

1. У мікросомній фракції гепатоцитів щурів на 45-ту добу введення ОЕФ технічної назви «Лапроли» марок 502 і 503 у дозах 1/10 і 1/100 LD50 відбувається пригнічення дихальної та редуказної активності, що підтверджується зниженням швидкості споживання кисню у присутності NAD(P)H, активності NAD(P)H-залежних редуказ. Підвищення дихальної та редуказної активності мікросом на 15-ту, а у деяких випадках і 30-ту добу дії речовин є адаптивною реакцією організму на введення ксенобіотиків, пов'язану, з одного боку, із запуском процесу їх знешкодження, а з іншого, з генерацією активних форм кисню.

2. Порушення дихальної та редуказної активності мікросом гепатоцитів щурів є однією з патогенетичних ланок механізмів дії ОЕФ-ЛП, що необхідно враховувати при розробленні засобів їх корекції.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується продовжити комплекс досліджень, спрямованих на обґрунтування впливу речовин на організм теплокровних тварин з метою визначення їх потенційної небезпеки та нормування.

Таблиця 2.

Редуказна активність мікросом печінки щурів за умов впливу олігоефірів багатоатомних спиртів технічної назви «Лапроли» марок 502 і 503

Речовина	NADPH-залежна редуказна активність (акцептор електронів цитохром с), нмоль цитохрому с/хв×мг білка			NADH-залежна редуказна активність (акцептор електронів цитохром с), нмоль цитохрому с/хв×мг білка		
	доба спостереження					
	15	30	45	15	30	45
Контроль	195,2±3,08	202,7±14,10	194,1±10,27	931,0±30,60	952,2±94,30	949,5±29,05
доза 1/10 LD50						
ОЕФ-ЛП-502	355,0± 17,87*	118,3± 10,14*	89,0± 6,35*	1378,0± 28,21*	1542,3± 76,51*	522,2± 27,81*
ОЕФ-ЛП-503	293,1± 18,86*	134,8± 17,89*	109,3± 8,99*	1106,3± 57,3*	1251,8± 17,50*	637,8± 28,91*
доза 1/100 LD50						
ОЕФ-ЛП-502	305,4± 10,96*	284,8± 25,98*	126,8± 7,74*	1123,0± 80,06*	1414,2± 23,88*	638,1± 23,73*
ОЕФ-ЛП-503	273,1± 8,88*	245,1± 19,51*	138,2± 7,30*	1061,3± 20,45*	1263,2± 20,63*	725,0± 57,71*

Примітка: * – $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

Література

1. Жуков В.И. Медико-биологические аспекты проблемы охраны водных объектов от загрязнения поверхностно-активными веществами / В.И. Жуков, Р.И. Кратенко, Ю.К. Резуенко [и др.]. – Х.: Торнадо, 2000. – 394 с.
2. Каган В.Е. Изучение механизма иницирования ферментативного НАДФН-зависимого перекисного окисления липидов в мембранах эндоплазматического ретикула / В.Е. Каган, Е.М. Сербинова, А.А. Минин // Биохимия. – 1985. – Т. 50, № 6. – С. 986-991.
3. Капранов С.В. Принципиальная схема влияния факторов среды жизнедеятельности на организм человека / С.В. Капранов // Довкілля та здоров'я. – 2011. – № 2. – С. 23-26.
4. Крыжановский В.К. Технология полимерных материалов. Синтез. Модификация. Технологическое оформление. Рециклинг. Экологические аспекты / В.К. Крыжановский. – СПб.: Профессия, 2008. – 534 с.
5. Кузнецова Э.Э. Микросомальное окисление в физиологических и патологических процессах / Э.Э. Кузнецова, В.Г. Горохова, А.Г. Горохов [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 4 (56). – С. 170-180.
6. Марченко М.М. Біохімічна трансформація ксенобіотиків у організмі / М.М. Марченко, О.В. Кеца, М.М. Великий. – Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2011. – 280 с.
7. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии / В.Н. Орехович. – М.: Медицина, 1977. – 371 с.
8. Сидорин Г.И. Адаптация как основа защиты организма от вредного действия химических веществ / Г.И. Сидорин, Л.В. Луковникова, А.Д. Фролова // Рос. хим. журнал. – 2004. – № 2. – С. 44-50.
9. Цудзевич Б.О. Ксенобіотики: накопичення, детоксикація та виведення з живих організмів / Б.О. Цудзевич, О.Б. Столяр, І.В. Калініна [та ін.]. – Тернопіль: Видавництво ТНТУ ім. І. Пулюя, 2012. – 384 с.
10. Юрченко П.О. Монооксигеназні активності печінки щурів в умовах гіперглікемії та гіперкетонемії, індукованих введенням стрептозоцину та дексаметазону / П.О. Юрченко, О.Х. Герич // Буковинський медичний вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 55-56.
11. Anzenbacher P. Metabolism of drugs and other xenobiotics / P. Anzenbacher, U.M. Zanger. – Wiley-VCH, 2012. – 724 p.
12. Danielle K. Hepatocytes: the powerhouse of biotransformation / K. Danielle, O. Pelkonen, T. Ahokas // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2012. – Vol. 44. – P. 257-265.
13. Dibyajyoti Saha. Xenobiotics, oxidative stress, free radicals Vs. Antioxidants: dance of death to heaven's life / Dibyajyoti Saha, Ankit Tamrakar // Asian J. Res. Pharm. Sci. – 2011. – Vol. 1, Issue 2. – P. 36-38.
14. Dogra S.C. Transcriptional activation of cytochrome P450 genes by different classes of chemical inducers / S.C. Dogra, M.L. Whitelaw, B.K. May // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 1998. – Vol. 25 (1). – P. 1-9.
15. Fotman H. Signaling functions of reactive oxygen species / H. Fotman, M. Maiorino, F. Ursini // Biochemistry. – 2010. – Vol. 49, № 5. – P. 835-842.
16. Guengerich F.P. Cytochrome P450 oxidations in the generation of reactive electrophiles: epoxidation and related reactions / F.P. Guengerich // Arch. Biochem. Biophys. – 2003. – Vol. 409, № 1. – P. 59-71.
17. Ingelman-Sundberg M. Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and environmental toxicants. The role of the CYP family of enzymes / M. Ingelman-Sundberg // Mutat. Res. – 2001. – Vol. 482 (1-2). – P. 11-19.
18. Karuzina I.I. Hydrogen peroxide-mediated inactivation of microsomal cytochrome P-450 during monooxygenase reactions / I.I. Karuzina, A.I. Archakov // Free Rad. Biol. Med. – 1994. – Vol. 17, № 6. – P. 557-567.
19. Kotelevtsev S.V. Some priorities and fundamental concepts in contemporary issues of ecological and molecular toxicology, biogeochemistry and ecological geochemistry: ecotoxicants including membranotropic xenobiotics and metals / S.V. Kotelevtsev, S.N. Orlov, D.N. Matorin, K.N. Novikov, A.P. Sadchikov, A.V. Smurov, V.V. Ermakov, S.A. Ostroumov // Ecological Studies, Hazards, Solutions. – 2013. – Vol. 19. – P. 122-124.
20. Lewis D.F. Evolution of the cytochrome P450 superfamily: sequence alignments and pharmacogenetics / D.F. Lewis, E. Watson, B.G. Lake // Mutat. Res. – 1998. – Vol. 410 (3). – P. 245-270.
21. Omiecinski C.J. Xenobiotic metabolism, disposition and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities / C.J. Omiecinski, J.P.V. Heuvel, G.H. Perdew, J.M. Peters // Toxicological Sciences. – 2011. – 120 (S1). – P. 49-75.
22. Rahal A. Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay / A. Rahal, A. Kumar, V. Singh, B. Yadav, R. Tiwari, S. Chakraborty, K. Dhama // Biomed. Research International. – 2014. – 19 p.
23. Zanger U.M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation / U.M. Zanger, M. Schwab // Pharmacology & Therapeutics. – 2013. – Vol. 138, Issue 1. – P. 103-141.

УДК: 577.152.1:616.36-092.9-099:543.385

ДИХАЛЬНА ТА РЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ У МІКРОСОМНІЙ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ОЛІГОЕФІРІВ БАГАТОАТОМНИХ СПИРТІВ

Бондарева А. В.

Резюме. У роботі оцінено вплив промислових забруднювачів водних об'єктів довкілля – олігоефірів багатоатомних спиртів технічної назви «Лапроли» марок 502 і 503 на дихальну та редуктазну активність у мікросомі гепатоцитів щурів. Встановлено підвищення швидкості споживання кисню у присутності NAD(P)H і активності NAD(P)H-цитохром с-редуктази на 15-ту добу дії речовин у дозах 1/10 і 1/100 LD50. Відмічено зниження швидкості споживання кисню та активності NAD(P)H-редуктази на 30-ту добу дії речовин у дозі 1/10 LD50 при підвищенні у дозі 1/100 LD50. Зроблено висновок, що підвищення дихальної та редуктазної активності мікросом гепатоцитів є адаптивною реакцією організму на введення речовин, пов'язаною із запуском процесу їх знешкодження та ймовірною генерацією активних форм кисню. Визначено пригнічення дихальної та редуктазної активності мікросом на 45-ту добу дії речовин в обох дозах. Виявлені порушення є однією з патогенетичних ланок механізмів дії олігоефірів, що необхідно враховувати при розробленні засобів їх корекції.

Ключові слова: олігоефіри, щури, мікросоми гепатоцитів, швидкість споживання кисню, активність NAD(P)H-цитохром с-редуктази.

УДК: 577.152.1:616.36-092.9-099:543.385

ДЫХАТЕЛЬНАЯ И РЕДУКТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В МИКРОСОМАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ОЛИГОЭФИРОВ МНОГОАТОМНЫХ СПИРТОВ

Бондарева А. В.

Резюме. В работе оценено влияние промышленных загрязнителей водных объектов окружающей среды – олигоэфиров многоатомных спиртов технического названия «Лапролы» марок 502 и 503 на дыхательную и редуктазную активность в микросомах гепатоцитов крыс. Установлено повышение скорости потребления кислорода в присутствии NAD(P)H и активности NAD (P) H-цитохром с-редуктазы на 15-е сутки действия веществ в дозах 1/10 и 1/100 LD50. Отмечено снижение скорости потребления кислорода и активности NAD(P) H-редуктазы на 30-е сутки действия веществ в дозе 1/10 LD50 при повышении в дозе 1/100 LD50. Сделан вывод, что повышение дыхательной и редуктазной активности микросом гепатоцитов является адаптивной реакцией организма на введение веществ, связанной с запуском процесса их обезвреживания и вероятной генерацией активных форм кислорода. Определены угнетение дыхательной и редуктазной активности микросом на 45-е сутки действия веществ в обеих дозах. Выявленные нарушения являются одной из патогенетических звеньев механизмов действия олигоэфиров, что необходимо учитывать при разработке средств их коррекции.

Ключевые слова: олигоэфиры, крысы, микросомы гепатоцитов, скорость потребления кислорода, активность NAD(P)H-цитохром с-редуктазы.

UDC: 577.152.1:616.36-092.9-099:543.385

RESPIRATORY AND REDUCTIVE ACTIVITY OF A MICROSOMAL FRACTION OF RAT'S LIVER UNDER THE ACTION OF OLIGOESTERS OF POLIATOMIC ALCOHOLS

Bondareva A. V.

Abstract. The study of mechanisms of pathological processes is an important direction in modern science. The widespread xenobiotics are polyatomic alcohols oligoethers under a technical name of "Laprols" (OLE-LP), which are characterized by a fairly significant amount of chemical industry and widely used in various sectors of the agriculture (as a basis for industrial production of plastics, polyurethane foams, paints, detergents, hydraulic and cooling substances, etc.). Some xenobiotics are harmful to human health, fauna and flora, form the unhealthy and pathological conditions. Some ways of adaptation to the action of xenobiotics is generated in the evolution, which include the key role in biochemical mechanisms of their neutralization. This is due to the operation monoxygenase system (MOS) in smooth endoplasmic reticulum.

Two enzyme systems that oxidize NADPH₂ and NADH₂ are located in a microsomal membrane of hepatocyte. NADH-dependent system acts with cytochrome P-450 as the final link, NADH-system – with cytochrome b₅ as an electron acceptor. It was determined that the activation of the MOS can lead to oxidative stress. Violation of MOS of hepatocytes is a cause of the disbalance of homeostasis and development of pathological processes.

This topic has not been studied in conditions of prolonged exposure to new representatives OLE-LP, and its study is necessary to disclose the mechanism of a biological action and the development of means of their correction.

Designs of OLE-LP number 502 (polioksypropilenglikol) and 503 (polioksypropilentryol) with regulated physico-chemical characteristics are used in the research work. The experimental program conducted on the mature rats of Wistar, having weight 180-220 g. The animals were given water solution with substances once a day for 45 days in doses of 1/10 and 1/100 LD₅₀. The animals of the control group received of drinking water. Each group had 10 animals. Rats were anesthetic by sodium thiopental in doses of 50 mg / kg, then they were decapitated. Subcellular fractions of rat liver were held by differential centrifugation. The study was conducted in the dynamics of observation: 15, 30, 45th day after the start of the experiment.

The results indicate biochemical disturbance of neutralization in the liver of rats, primarily in MOS. This could lead to disruption of the electron transport chain, the emergence of reactive metabolites. Increase of respiratory activity in rat's liver (15th day of action at 1/10 LD₅₀; 15th and 30th day of action at 1/100 LD₅₀) is an adaptive reaction of the organism. The increase of rate of oxygen consumption in the presence of NAD (P) H and the activity of NAD (P) H-cytochrome c-reductase on the 15th day in doses of substances action 1/10 1/100 LD₅₀ was found. Decrease of oxygen consumption and the activity of NAD (P) H-reductase on the 30th day of action of substances in 1/10 LD₅₀ dose with increasing dose 1/100 LD₅₀ was noted. It is concluded that the increase of respiratory and reductive activity of microsomes, hepatocytes is an adaptive response of the body to the introduction of substances associated with the launch of the process of their removal and possibility of reactive oxygen species generation. The respiratory depression and microsomal reductase activity on 45th day of action of substances in both doses were determined.

These disorders are those of the pathogenetic links of oligoesters action. It must be taken into account when the means of correction will be developed.

Keywords: oligoesters, rats, microsome of hepatocyte, oxygen uptake rate, activity of NAD(P)H-cytochrome c-reductase.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Статья надійшла 17.03.2016 року