

УДК 577.121.7:661.185.6

*І.В. Сахарова, Л.І. Данильченко, Н.О. Рекрутюк**Одеський національний медичний університет***СТАН СИСТЕМИ МІКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ПІД ВПЛИВОМ АЗОТОВМІСНИХ ДЕТЕРГЕНТІВ**

Вивчено вплив азотовмісних детергентів на два мікросомальні електронно-транспортні ланцюги: НАДФ·Н-зв'язуючу систему з цитохромом P_{450} як кінцевою ланкою і НАД·Н-систему, пов'язану з цитохромом V_5 як акцептором електронів. Дослідженню піддавалися параметри мікросомального окиснення: дихальна активність, вміст цитохромів P_{450} , V_5 , активність редуктаз. Встановлено, що надходження в організм азотовмісних детергентів у дозі $1/100$ ДЛ₅₀ призводить до посилення вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів, що свідчить про збільшення всіх показників мікросомального окиснення V_5 .

Ключові слова: азотовмісні детергенти, мікросомальне окиснення, дихальна активність, вільнорадикальне перекисне окиснення ліпідів.

З сучасних гігієнічних позицій в умовах впливу на організм факторів навколишнього та виробничого середовища для оцінки резервних можливостей організму до несприятливого впливу найчастіше використовують методи вивчення модифікуючих хімічних забруднювачів на рівні мікросомальної окислальної системи з паралельним дослідженням можливого несприятливого ефекту на рівні мембраноструктурованих ферментів [1–3].

У біотрансформації ксенобіотиків в організмі беруть участь печінка, легені, шкіра, нирки, селезінка, наднирники, клітини імуннокомпетентних систем та інші органи [4, 5]. Однак головні ферментні системи, що беруть участь у перетворенні ксенобіотиків, локалізовані в гепатоцитах, де в результаті окислювально-відновних реакцій і реакцій кон'югації чужорідна хімічна речовина модифікується і елімінується екскреторними системами. Ці ферментні системи локалізовані в мітохондріях, мікросомах і гіалоплазмі. Дезінтоксикація хімічних сполук може проходити за типом хімічного окиснення, відновлення, гідролітичного перетворення або шляхом кон'югації. Головною лабораторією, що здійснює ці процеси, є ендоплазматична мережа клітин печінки, в мікросомах якої міститься

значна кількість рибонуклеїнових кислот, фосфоліпідів та білків. Основним функціональним компонентом мікросомальної мембрани є її ферментна система [6–8].

Метою даної роботи було вивчення впливу азотовмісних поверхнево-активних речовин (ПАР) на два мікросомальні електронно-транспортні ланцюги: НАДФ·Н-зв'язуючу систему з цитохромом P_{450} як кінцевою ланкою і НАД·Н-систему, пов'язану з цитохромом V_5 як акцептором електронів.

Матеріал і методи. У експериментальних дослідженнях використовували 128 білих щурів масою 180–220 г. Дотримувалися частин третьої і четвертої статті 26, статті 31 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», розпорядження Кабінету Міністрів України від 28.07.10 № 1585 «Про затвердження переліку нормативно-правових актів з питань захисту тварин від жорстокого поводження», а також наказу МОН України від 01.03.12 № 249 «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах».

Дослідженню піддавалися параметри мікросомального окиснення: дихальна активність, вміст цитохромів P_{450} , V_5 , активність редуктаз.

© І.В. Сахарова, Л.І. Данильченко, Н.О. Рекрутюк, 2015

Найбільш повно й об'єктивно активність мікросомального окиснення може бути оціненою за швидкістю метаболізму, що відображає активність як початкових (НАДФ·Н-, НАД·Н-редуктаз), так і термінальних (цитохроми) ділянок. Як субстрат мікросомальної P_{450} -залежної системи був використаний Р-нітронізол – ксенобіотик, що піддається окислювальному деметилюванню з утворенням Р-нітрофенолу, для якого є характерним спектр поглинання в лужному середовищі.

Споживання кисню суспензією реєстрували за допомогою закритого платинового кисневого електрода Кларка на полярографі ПА-3 (Угорщина). НАДФ·Н-цитохром-С-редуктазну та НАД·Н-цитохром-С-редуктазну активності реєстрували на двопробному спектрофотометрі «Specord» при довжині хвилі 550 нм за методом L. Ernster та співавт. Цитохроми V_5 та P_{450} визначали в суспензії мікросом за методом T. Omura, P. Sato. При цьому вимір цитохрому V_5 ґрунтувався на визначенні різниці в поглинанні окисленої і відновленої форм гемопротейдів, а P_{450} – на визначенні величини поглинання комплексу відновленого цитохрому P_{450} з окисом вуглецю. Вміст цитохромів визначали за допомогою спектрофотометра «Specord»

(Німеччина). Для визначення швидкості реакції окислювального деметилювання суспензію мікросом додавали в середу інкубації, ініціюючи її внесенням НАДФ·Н. Проводили реакцію трихлороцтовою кислотою, обробляли лугом, білок центрифугували і визначали Р-нітрофенол спектрофотометрично при довжині хвилі 436 нм на спектрофотометрі СФ-46.

Результати досліджень були статистично оброблені за допомогою критерію Ст'юдента–Фішера, критерію χ^2 та Вілкоксона.

Результати та їх обговорення. Вивчення впливу азотовмісних ПАР на О-деметилазну активність мікросом печінки щурів показало, що під впливом $1/100$ ДЛ₅₀ ці процеси зростають. Більшою мірою посилення деметилювання відбувалося під впливом ФОМ-9 і неонолу ФОМ 9-4. Досліджувані речовини також підвищували цитохром-С-редуктазну активність, впливаючи тим самим на два електронно-транспортні мікросомальні ланцюги (табл. 1).

Швидкість ендogenousного дихання, окиснення НАДФ·Н, окиснення НАД·Н у присутності ЕДТА та перекисного окиснення ліпідів підвищувалася в усіх тварин, які підлягали впливу азотовмісних ПАР (табл. 2).

Таблиця 1. О-деметилазна та НАД·Н- і НАДФ·Н-цитохром-С-редуктазна активності мікросом печінки щурів при впливі азотовмісних ПАР у дозі $1/100$ ДЛ₅₀ ($M \pm m$)

Показник	Контроль	ФОМ-9	Неонол ФОМ 9-4	Неонол ФОМ 9-12
О-деметилаза, нмоль р-нітрофенолу/хв·мг білка	6,69±0,64	17,3±1,6*	16,4±1,4*	15,2±1,8*
НАДФ·Н-цитохром-С-редуктаза, нмоль цитохрому С/хв·мг білка	202,0±24,3	270,8±16,9*	286,5±21,7*	280,4±21,6*
НАД·Н-цитохром-С-редуктаза, нмоль цитохрому С/хв·мг білка	955,1±183,3	1405,4±106,4*	1395,7±84,2*	1340,8±73,6*

* $p < 0,05$; різниця з контролем статистично вірогідна.

Таблиця 2. Споживання кисню мікросомами печінки при впливі азотовмісних ПАР у дозі $1/100$ ДЛ₅₀ ($M \pm m$)

Показник	Контроль	ФОМ-9	Неонол ФОМ 9-4	Неонол ФОМ 9-12
Швидкість ендogenousного дихання, нмоль O_2 /хв	1,40±0,35	3,20±0,65*	3,50±1,20*	2,80±0,56*
Швидкість окиснення НАДФ·Н, нмоль/ O_2	3,32±0,42	6,52±1,30*	5,46±1,33*	7,00±1,54*
Швидкість окиснення НАДФ·Н у присутності ЕДТА, нмоль/ O_2	2,91±0,52	6,20±0,70*	4,90±0,32*	3,96±0,73*
Швидкість ПОЛ, кмоль/л	0,42±0,11	1,80±0,26*	2,16±0,18*	1,70±0,44*

* $p < 0,05$; різниця з контролем статистично вірогідна.

Випробовувані препарати не чинили впливу на вміст цитохрому В₅, однак приводили до збільшення концентрації цитохрому Р₄₅₀ (табл. 3).

Висновки

1. Провідною ланкою в механізмі біологічної дії азотовмісних поверхнево-активних речовин є стимуляція перекисного окиснення

Таблиця 3. Вплив азотовмісних ПАР у дозі 1/100 ДД₅₀ на вміст мікосомальних цитохромів, нмоль/мг білка (M±m)

Показник	Контроль	ФОМ-9	Неонол ФОМ 9-4	Неонол ФОМ 9-12
Цитохром В ₅	0,620±0,104	0,640±0,112	0,582±0,130	0,578±0,120
p		>0,05	>0,05	>0,05
Цитохром Р ₄₅₀	0,952±0,212	1,860±0,015*	1,673±0,243*	1,584±0,212*
p		<0,05	<0,05	<0,05

Примітка. p – різниця з контролем: * статистично вірогідна.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що азотовмісні поверхнево-активні речовини у дозі 1/100 ДД₅₀ збільшують усі показники мікосомального окиснення В₅. Це свідчить про посилення вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів під впливом сполук цієї групи. Зміни з боку монооксигеназної системи підтверджують зазначений характер біологічної дії досліджуваних поверхнево-активних речовин.

ліпідів продуктами біотрансформації детергентів, вільними радикалами й перекисами, що утворюються при стимуляції мікосомального окиснення.

2. Надходження до організму азотовмісних детергентів у дозі 1/100 ДД₅₀ призводить до посилення вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів, що свідчить про збільшення всіх показників мікосомального окиснення В₅.

Список літератури

1. Трахтенберг І. М. Біологічні наслідки забруднення навколишнього середовища нітритами та нітратами / І. М. Трахтенберг, В. В. Бабієнко // Інтегративна антропологія. – 2013. – № 1 (21). – С. 37–39.
2. Воробьев С. И. Биологические и физико-химические свойства неионогенных поверхностно-активных веществ / С. И. Воробьев // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – № 3. – С. 3–8.
3. Медико-биологические аспекты проблемы охраны водных объектов от загрязнения поверхностно-активными веществами / [В. И. Жуков, Р. И. Кратенко, Ю. К. Резуненко и др.]. – Харьков : Торнадо, 2000. – 394 с.
4. Пивень В. И. Прогнозирование безвредных уровней ксенобиотиков в воде водоемов / В. И. Пивень, В. И. Жуков, Н. А. Ващук // Гигиеническая наука и практика в решении вопросов обеспечения санэпидблагополучия населения в Центральных регионах России : сб. науч. трудов ФНЦ гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана. – Липецк, 2003. – Вып. 8. – С. 163–168.
5. Стеценко С. А. Влияние группы азотсодержащих поверхностно-активных веществ на систему микросомального окисления / С. А. Стеценко // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2001. – № 1. – С. 28–30.
6. Стеценко С. О. Стан системи мікосомального окислення у щурів, токсикованих поверхнево-активними речовинами / С. О. Стеценко, В. В. М'ясоєдов // Медицина сьогодні і завтра. – 2000. – № 1. – С. 17–19.
7. Laha S. Surfactant-soil interactions during surfactant-amended remediation of contaminated soils by hydrophobic organic compounds: a review / S. Laha, B. Tansel, A. Ussawarujikulchai // J. Environ. Manage. – 2009. – V. 90, № 1. – P. 95–100.
8. Ostroumov S. A. Biological effects of surfactants / S. A. Ostroumov. – Boca Raton, London, New York : CRC Press / ed. Taylor & Francis. – 2006. – 279 p.

И.В. Сахарова, Л.И. Данильченко, Н.А. Рекрутюк

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ДЕТЕРГЕНТОВ

Изучено влияние азотсодержащих детергентов на две микросомальные электронно-транспортные цепи: НАДФ·Н-связующую систему с цитохромом P₄₅₀ в качестве конечного звена и НАД·Н-систему, связанную с цитохромом B₅ в качестве акцептора электронов. Исследованию подвергались параметры микросомального окисления: дыхательная активность, содержание цитохрома P₄₅₀, B₅, активность редуктаз. Установлено, что поступление в организм азотсодержащих детергентов в дозе 1/100 ДЛ₅₀ приводит к усилению свободнорадикального перекисного окисления липидов, что свидетельствует об увеличении всех показателей микросомального окисления B₅.

Ключевые слова: азотсодержащие детергенты, микросомальное окисление, дыхательная активность, свободнорадикальное перекисное окисление липидов.

I.V. Sakharova, L.I. Danylchenko, N.A. Rekrutiuk

MICROSOMAL OXIDATION SYSTEM UNDER THE INFLUENCE OF NITROGEN-CONTAINING DETERGENTS

The effect of nitrogen-containing detergents in two microsomal electron transport chain: NADP·H-binding system with the cytochrome P₄₅₀ as a final management and NAD·N system associated with cytochrome B₅ as an electron acceptor, has been studied. Research were exposed microsomal oxidation parameters: respiratory activity, cytochrome P₄₅₀, B₅ reductase activity. It was found, that the intake of nitrogen-containing detergents at a dose of 1/100 DL₅₀ leads to increased of lipid peroxidation, indicating an increase in all parameters of microsomal oxidation B₅.

Key words: nitrogen-containing detergents, microsomal oxidation, respiratory activity, lipid peroxidation.

Поступила 10.06.15