

## **ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИПРОПИЛЕНПОЛИОЛОВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И ФУНКЦИЮ ДЕТОКСИКАЦИИ**

**Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)**

Работа выполнена в Харьковском национальном медицинском университете в рамках научной проблемы «Изучение механизмов биологического действия простых полиэфиров в связи с проблемой охраны окружающей среды», № государственной регистрации 0110U001812.

**Вступление.** Развитие химической, нефтедобывающей, нефтеперерабатывающей промышленности сопровождается увеличением чужеродных химических соединений в различных отраслях народного хозяйства и накоплением их в окружающей среде. Многим ксенобиотикам свойственно формирование и развитие отдаленных эффектов. В определенных условиях особенно на производстве, химические соединения могут быть причиной развития острых и хронических отравлений. Некоторые ксенобиотики способны наносить непоправимый вред здоровью населения, фауне и флоре, формировать экологические обусловленные болезни и патологические состояния. Одним из самых мощных источников загрязнения среды обитания человека за последние 20-30 лет стали предприятия химии органического синтеза по производству пестицидов, гербицидов, флотореагентов, синтетических моющих средств, эмульгаторов, поверхностно-активных веществ [3,4,8]. Это в полной мере относится и к производствам полиоксипропиленполиолов (ПОПП), которые выпускают большой объем и ассортимент различных марок полиолов, используемых для получения пенопластов, термопластов, пластмасс, эпоксидных смол, лаков, эмалей, гидравлических, тормозных и охлаждающих жидкостей [4]. Ежегодно в опытное и промышленное производство внедряются десятки новых марок полиолов, которые несут потенциальную и реальную опасность здоровью населения и являются совершенно не изученными в медико-биологическом отношении. К таким веществам относится и новые марки полиоксиэтиленгликолей (ПОЭГ), которые имеют положительные промышленные физико-химические свойства и широко используются в различных областях народного хозяйства как конечные продукты в виде флотореагентов, эмульгаторов, так и стартовых соединений при получении пластмасс, эпоксидных смол, лаков. В связи с этим, актуальным является обоснование прогноза потенциальной опасности химических соединений и разработка профилактических мероприятий, направленных на укрепление и сохранение здоровья населения.

**Целью работы** явилось изучение влияния новой группы ПОПП на окислительно-восстановительные процессы и функцию детоксикации в условиях подострого эксперимента.

**Объект и методы исследования.** Выбор новой группы ПОПП – полиоксипропиленгликоля молекулярной массы 502 (П-502) и полиоксипропиленгликоля молекулярной массы 503 (П-503) с регламентированными физико-химическими свойствами, был обоснован широким использованием их в различных областях народного хозяйства, большим объемом производства и отсутствием прогностической оценки потенциальной опасности для теплокровных животных и окружающей среды. Программа исследований предусматривала проведение подострого опыта на половозрелых белых крысах популяции WAG массой 180-200г, которым внутрижелудочно на протяжении 45 суток с помощью металлического зонда вводились утром натощак водные растворы ПОПП из расчета 1/100 и 1/1000 среднесмертельной дозы – ДЛ<sub>50</sub>. Контрольная группа животных получала соответствующие объемы питьевой воды. Всего было использовано 50 животных, по 10 крыс в каждой группе в соответствии с правилами гуманного отношения к животным и требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985). На основании параметров острой токсичности П-502 относится к умеренотоксичным соединениям (3 класс опасности). Для белых крыс и мышей ДЛ<sub>50</sub> были установлены соответственно на уровнях: 3,04 и 2,6 г/кг массы животного, а для П-503 – на уровнях: 21,3 и 20,2 г/кг массы животного, соответственно для крыс и мышей. На основании оценки параметров острой токсичности П-503 является малотоксичным веществом (4 класс опасности). Исследуемые ксенобиотики не обладают видовой чувствительностью и кумулятивными свойствами [6]. В соответствии с программой подострого опыта предусматривалось изучение влияния полиолов на состояние углеводного, белкового, липидного обмена, антиоксидантную систему (АОС) и процессы детоксикации ксенобиотиков. Содержание кетоновых тел в крови определялось путем связывания ацетона салициловым методом [4]. Неэстерифицированные свободные жирные кислоты (НЭЖК) оценивали по экстракции медных солей жирных кислот в плазме крови органическими растворителями [5]. Гликоген в печени определяли методом Зейфтера [5,6]. Активность

УДФ-глюкуронил-трансферазы (УДФ-ГК) микросомальной фракции печени исследовали по скорости конъюгации паранитрофенола [1]. Содержание окисленного (ОГ) и восстановленного глутатиона (ВГ) определяли в глутатионтрансферазной реакции [9]. Цистеин исследовался в реакции с нингидрином в трихлоруксусном фильтрате [10]. Уровень вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивался по накоплению малонового диальдегида (МДА), который определяли по методу, описанному Ю. А. Владимировым и А. И. Арчаковым [2]. Гидроперекиси ненасыщенных жирных кислот (диеновые конъюгаты – ДК) определяли спектрофотометрическим методом, который основан на характерном их поглощении в ультрафиолетовой области спектра с максимумом 233 нм [2]. Содержание в крови креатинина, мочевины, холестерина (ХС), глюкозы и активности ферментов аланиновой (АлАТ) и аспарагиновой аминотрансферазы (АсАТ) определяли общепринятыми методами [5,6]. Глюкозо-6-фосфатаза изучалась в печени по методу [8]. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием критерия Стьюдента-Фишера.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Результаты изучения влияния полиолов в 1/100 ДЛ<sub>50</sub> на белковый обмен выявили повышение активности АсАТ и АлАТ, содержания мочевины и креатинина в сыворотке крови. В 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> ксенобиотики не влияли на белковый и азотистый обмен. Полиолы в 1/100 ДЛ<sub>50</sub> усиливали активность процесса трансаминирования аминокислот и их распад, что сопряжено с повышением мочевины и креатинина (табл. 1).

Так активность АлАТ повышалась на 372 % и 330 %, АлАТ на 376,6 % и 388,3 %, соответственно под влиянием П-502 и П-503 в 1/100 ДЛ<sub>50</sub>. При этом содержание в крови мочевины повышалось на 195 % и 269 %, а креатинина на 87 % и 99 %, соответственно у групп животных токсифицированных П-502 и П-503. Анализ оценочных показателей белкового обмена позволяет судить, что под влиянием 1/100 ДЛ<sub>50</sub> преобладают катаболические процессы над анаболическими синтезами.

Сходная динамика была отмечена и для динамики мониторинговых показателей липидного обмена. Исследования показали, что полиолы в 1/100 ДЛ<sub>50</sub> повышали в сыворотке крови содержание кетоновых тел (КТ), НЭЖК, ХС, а в микросомальной фракции печени МДА и ДК (табл. 2). В сыворотке крови уровень КТ увеличивался на 475 % и 566 %, НЭЖК на 137 % и 155 %, ХС на 107 % и 102 %, соответственно

Таблица 1  
Влияние полиолов в подостром опыте на белковый обмен

Показатели	Контроль n=10	Вещества, ДЛ <sub>50</sub> (M±m), n=10			
		П-502		П-503	
		1/100	1/1000	1/100	1/1000
АсАТ <sup>а</sup>	0,72±0,06	3,40±0,43*	0,74±0,07	3,1±0,32*	0,70±0,07
АлАТ <sup>а</sup>	060±0,05	2,86±0,35*	0,63±0,04	2,93±0,28*	0,62±0,06
Мочевина <sup>б</sup>	4,65±0,38	13,7±0,96*	4,42±0,54	12,5±1,14*	4,76±0,47
Креатинин <sup>с</sup>	68,7±4,2	128,4±7,3*	65,8±5,10	136,4±8,2*	71,50±5,2

Примечание: <sup>а</sup> – мкмоль/лчас, <sup>б</sup> – ммоль/л, <sup>с</sup> – мкмоль/л; \* – различия достоверные p < 0,05.

Таблица 2  
Влияние полиолов в подостром опыте на показатели липидного обмена

Показатели	Контроль	Вещества, ДЛ <sub>50</sub> (M±m), n=10			
		П-502		П-503	
		1/100	1/1000	1/100	1/1000
КТ <sup>а</sup> , сыворотка	0,32±0,07	1,84±0,15*	0,34±0,06	2,10±0,17*	0,31±0,05
СЖК <sup>а</sup> , кровь	0,6±0,08	14,2±0,12*	0,62±0,05	1,53±0,14*	0,64±0,07
ХС <sup>а</sup> , кровь	1,42±0,1	2,94±0,18*	137±0,12	2,87±0,22*	1,46±0,09
МДА <sup>б</sup> , печень	8,45±0,67	20,3±1,14*	7,93±0,58	19,60±1,35	8,28±0,76
ДК <sup>а</sup> , печень	35,6±3,1	64,7±3,26*	38,2±3,10	62,43±4,1*	36,4±2,9

Примечание: \* – различия достоверные p < 0,05, <sup>а</sup> – ммоль/л, <sup>б</sup> – нмоль/мг белка.

Таблица 3  
Влияние полиолов в подостром опыте на углеводный обмен

Показатели	Контроль	Вещества, ДЛ <sub>50</sub> (M±m), n=10			
		П-502		П-503	
		1/100	1/1000	1/100	1/1000
Глюкоза <sup>а</sup> -кровь	5,10±0,35	3,5±0,44*	4,8±0,46	3,2±0,36*	5,27±0,48
Гликоген <sup>б</sup>	134,7±7,2	24,3±2,2*	27,3±6,8	27,5±1,8*	31,4±6,2
Глюкозо-6-фосфатаза <sup>с</sup>	9,60±0,88	2,5±0,18*	8,7±0,83	3,2±0,24*	8,5±0,74

Примечание: \* – различия достоверные p < 0,05, <sup>а</sup> – ммоль/л, <sup>б</sup> – мкмоль глюкозы/г печени, <sup>с</sup> – нмоль/мин·мг белка.

у групп животных, которые подвергались воздействию П-502 и П-503 1/100 ДЛ<sub>50</sub>. На этом фоне в микросомальной фракции печени отмечалось повышение МДА на 140 % и 132 %, а ДК – на 75 % и 82 % у групп животных, токсифицированных П-502 и П-503.

Изучение динамики показателей жирового обмена дает основание судить, что полиолы в 1/100 ДЛ<sub>50</sub> активируют распад жиров, накопление кетоновых тел, скорость старения организма, в основе которой лежит стимуляция свободно-радикальных процессов и ПОЛ. Изучение некоторых мониторинговых показателей углеводного обмена обнаружило под влиянием 1/100 ДЛ<sub>50</sub> снижение в

**Таблиця 4**  
**Влияние полиолов в подостром опыте на функцию детоксикации**

Показатели	Вещества, ДЛ <sub>50</sub> (M±m), n=10				
	Контроль	П-502		П-503	
		1/100	1/1000	1/100	1/1000
УДФ-ГТ <sup>а</sup> ,печень	3,72±0,36	1,95±0,18*	3,65±0,43	1,84±0,16*	3,80±0,35
ВГ <sup>б</sup> , печень	7,50±0,68	3,46±0,22*	7,60±0,74	3,30±0,33*	7,38±0,66
Цистеин <sup>в</sup> ,печень	0,34±0,03	0,16±0,02*	0,36±0,04	0,18±0,03*	0,33±0,05
ОГ <sup>в</sup> , печень	0,35±0,06	1,42±0,12*	0,33±0,07	1,65±0,15*	0,37±0,06

**Примечание:** \* - различия достоверные p<0,05, <sup>а</sup> - нмоль/мин/мг белка, <sup>в</sup> - мкмоль/г.

крови содержания глюкозы, в печени гликогена и в микросомальной фракции гепатоцитов активности глюкозо-6-фосфатазы (табл. 3). Так, глюкоза снижалась на 32% и 37%, гликоген в печени – на 82% и 80%, а активность в микросомальной фракции глюкозо-6-фосфатазы на 74% и 67%. Эти исследования свидетельствуют о том, что полиолы в условиях подострого опыта под влиянием 1/100 ДЛ<sub>50</sub> приводят к развитию гипогликемии. Снижение содержания глюкозы крови может быть следствием токсификации организма, дефицита глюкокортикоидов, глюкагона, тиреоидных гормонов. Эти данные подтверждались и снижением содержания гликогена в печени и активности фермента глюкозо-6-фосфатазы микросомальной фракции печени.

Изучение обезвреживающей функции печени обнаружило снижение активности УДФ – ГТ в микросомальной фракции гепатоцитов, содержания

ВГ в печени на фоне увеличения содержания в печени ОГ (табл. 4).

Так, было установлено снижение активности УДФ-ГТ на 48% и 51%, содержания ВГ на 54% и 56%, цистеина на 53% и 47% на фоне повышения ОГ на 60% и 53%, соответственно при воздействии П-202 и П-50.

**Выводы.**

1. Результаты исследования свидетельствуют, что полиолы П-502 и П-503 в 1/100 ДЛ<sub>50</sub> усиливают процессы трансаминирования аминокислот

и распад белков, что сопряжено с повышением в крови мочевины и креатина. В этой дозе ксенобиотики усиливают катаболические процессы жиров, приводят к накоплению кетоновых тел и ускоряют свободнорадикальные процессы, ПОЛ и скорость старения организма.

2. На фоне нарушения липидного и белкового обмена отмечается развитие гипогликемии, которая характеризуется снижением глюкозы в крови, гликогена в печени и активности глюкозо-6-фосфатазы в микросомальной фракции гепатоцитов. Все эти изменения сопровождаются ингибированием обезвреживающей и антиоксидантной функции печени.

**Перспективы дальнейших исследований.** В дальнейшем планируется исследование влияния ПОПП на активность глюкуронидной, глутатионовой, сульфатной и ацетильной конъюгации.

**Литература**

1. Асатиани В. С. Биохимическая фотометрия / В. С. Асатиани. – М.: Изд-во Академии наук СССР, 1957. – 836 с.
2. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
3. Жуков В. И. Фториды: биологическая роль и механизм действия / В. И. Жуков, О. В. Зайцева, В. И. Пивень, [и др.]. – Белгород, 2006. – 220 с.
4. Жуков В. И. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов / В. И. Жуков, Л. Д. Попова, О. В. Зайцева [и др.]. – Харьков : «Торнадо», 2000. – 438 с.
5. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник под ред. проф. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
6. Покровский А. А. Биохимические методы исследования в клинике / А. А. Покровский. – М.: Медицина, 1969. – 652 с.
7. Покровский А. А. Методы разделения и ферментной идентификации субклеточных фракций / А. А. Покровский, А. И. Арчаков // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1968. – С. 5-59.
8. Щербань Н. Г. Биохимические механизмы радиомиметических эффектов поверхностно-активных веществ / Н. Г. Щербань, В. И. Жуков, В. В. Мясоедов [и др.]. – Харьков : «Паритеты Украины», 2012. – 120 с.
9. Asaoka K. An enzymatic assay of reduced glutathione using glutathione S-ary etransferase with O-dinitrobenzene as a substrate / K. Asaoka, K. Takahashi // J. Biochem. – 1981. – Vol. 90, №5. – P. 1237–1242.
10. Gaitonde M. K. A spectrophotometric method for direct determination of cysteine in the presence of the naturally occurring aminoacid / M. K. Gaitonde // Biochem. J. – 1967. – Vol. 104, №2. – P. 627–633.

УДК 577. 121:543. 395:616-099-092. 9

**ВПЛИВ ПОЛІОКСІПРОПІЛЕНПОЛІОЛІВ НА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ І ФУНКЦІЮ ДЕТОКСИКАЦІЇ**

**Бондарева А. В., Артюгіна Л. І., Багмут І. Ю., Поліщук Т. В., Жуков В. І.**

**Резюме.** Вивчено вплив поліолів на стан вуглеводного, білкового, ліпідного обміну, антиоксидантну систему і процеси детоксикації ксенобіотиків. Встановлено, що поліолі П-502 і П-503 порушують білковий, ліпідний і вуглеводний обмін. Це призводить до інгібування знешкодуючої та антиоксидантної функції печінки.

**Ключові слова:** поліолі, антиоксидантна система, процеси детоксикації.

УДК 577. 121:543. 395:616-099-092. 9

### **ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИПРОПИЛЕНПОЛИОЛОВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И ФУНКЦИЮ ДЕТОКСИКАЦИИ**

**Бондарева А. В., Артюгина Л. И., Багмут И. Ю., Полищук Т. В., Жуков В. И.**

**Резюме.** Изучено влияние полиолов на состояние углеводного, белкового, липидного обмена, антиоксидантную систему и процессы детоксикации ксенобиотиков. Установлено, что полиолы П-502 и П-503 нарушают белковый, липидный и углеводный обмен. Все эти изменения приводят к ингибированию обезвреживающей и антиоксидантной функции печени.

**Ключевые слова:** полиолы, антиоксидантная система, процессы детоксикации.

UDC 577. 121:543. 395:616-099-092. 9

### **Influence of Polyoxypropylenepolyols on Metabolic Processes and Detoxifying Function**

**Bondareva A. V., Artyuhyna L. I., Bagmut I. U., Polischuk T. V., Zhukov V. I.**

**Abstract.** Chemical industry is evolving and so alien various chemical compounds accumulate in the environment. Many xenobiotics can form the development of long-term effects. Some xenobiotics are harmful to human health, fauna and flora, form of the disease and pathological conditions. The chemical compound under certain conditions may be a cause of acute and chronic poisoning. In this regard, the current study is designed to predict the potential hazards of chemical compounds and the development of preventive measures aimed at health strengthening and maintaining.

Selection of a new group polyoxypropyleneglycol with molecular weight 502 (P-502) and polyoxypropylentriol with molecular weight 503 (P-503) with regulated physico-chemical properties was justified by their wide use in various, high-volume production and lack of prognostic evaluation of the potential danger to warm-blooded animals and the environment.

The influence of polyoxypropylenepolyols on the carbohydrate, protein and lipid metabolism, antioxidant system and detoxifying processes of xenobiotics in the conditions of subacute experiment was studied. On the basis of acute toxicity parameters P-502 belongs to the median lethal compounds (the 3rd class of danger). The median lethal  $DL_{50}$  for mice and white rats were set respectively at levels of 3.04 and 2.6 g / kg animals weight. The median lethal doses for P-503 are defined at the level of 21.3 and 20.2 g/kg weight of animals. P-503 is a low-toxic substance (the 4th class of danger).

The research programme has envisaged performing a subacute experiment on eugenic white rats of WAG population, weight 180-200g, when they were daily entered water solution of xenobiotics in doses 1/100 and 1/1000  $DL_{50}$  in the morning before eating. The control group received drinking water. The experiment was carried out during 45 days. Xenobiotics have not studied the species sensitivity and cumulative properties. Fifty animals were used for experiment each group consisted of 10 rats.

Polyols in doses 1/100  $DL_{50}$  activate the process of amino acids transamination and their break-down. It was linked with the increase of urea and creatinine levels. The similar dynamics was observed for indices of lipid metabolism. Xenobiotics did not affect protein and nitrogen-containing compounds metabolism in 1/1000  $DL_{50}$ . Polyols  $DL_{50}$  increased the level of ketone bodies, free fatty acids and cholesterol in blood in doses 1/100. In blood levels of ketone bodies was increased by 475% and 566%, the fatty acids by 137% and 155%, cholesterol by 107% and 102%. In the conditions of subacute experiment the use of xenobiotics in doses of 1/100  $DL_{50}$  led to hypoglycemia, which might indicate in toxication of the organism, deficiency of glucocorticoids, glucagon and thyroid hormones. The activity of glucose-6-phosphatase was also decreased. Glucose was decreased by 32% and 37% glycogen in the liver – 82% and 80%, and the activity in microsomal fractions of the glucose-6-phosphatase and 74% to 67%.

The study of detoxifying function of liver revealed decrease of the activity of UDP-glucuronyltransferase and concentration of reduced glutathione in liver. UDP-glucuronyltransferase activity was decreased by 48% and 51%, reduced glutathione decreased by 54% and 56% and 53% cysteine and 47%. Oxidized glutathione is increased by 60% and 53% when exposed to P-502 and P-503.

The results show that polyols P-502 and P-503 to 1/100  $DL_{50}$  enhance transamination processes of decomposition of amino acids and proteins. Xenobiotics increase catabolism of lipids, lead to the accumulation of ketone bodies and accelerate free radical processes. Also notes the development of hypoglycemia. All these changes are accompanied by inhibition of antioxidant and detoxifying liver function.

In our further investigations influence of polyoxypropylene on detoxifying function of the liver using following markers: activity of glucuronide and glutathione metabolism enzymes.

**Key words:** polyols, antioxidant system, detoxification processes.

*Рецензент – проф. Непорада К. С.*

*Стаття надійшла 18. 04. 2014 р.*