

© Денисенко С. А., Вишницька І. А., Жерновая М. Є., Резуненко Ю. К., Богданова І. В.

УДК 577.121.7:577.124:616.36-092.9-099:543.395

¹Денисенко С. А., ³Вишницька І. А., ³Жерновая М. Є., ¹Резуненко Ю. К.,
²Богданова І. В.

ВПЛИВ «ПОЛІОЛІВ» У СУБТОКСИЧНИХ ДОЗАХ НА ВУГЛЕВОДНИЙ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН ПЕЧІНКИ ПРИ ТРИВАЛІЙ ДІЇ В ПІДГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

¹Харківський національний медичний університет (м. Харків)

²ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології» (м. Харків)

³Луганський державний медичний університет (м. Рубіжне)

sv.a.deni@rambler.ru

Робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри онкохірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти та пріоритетною темою МОЗ України «Біохімічні механізми розвитку дисметаболических процесів за умов впливу хімічних чинників навколишнього середовища» (№ державної реєстрації 0115U000240).

Вступ. Зниження енергопродукції тісно пов'язано з порушеннями вуглеводного обміну, що часто спостерігається при багатьох захворюваннях і патологічних станах. Показано, що в умовах гіпоксії змінюється тип енергетики, який переключається на активацію анаеробних процесів при порушенні основного шляху утворення енергії в аеробних умовах. Відомо, що порушення основного шляху утворення енергії при різного роду ушкодженнях хімічними сполуками супроводжується компенсаторною інтенсифікацією інших ланцюгів метаболізму, особливо гліколітичного, та спостерігається в умовах ішемії [1,2]. Дослідження свідчать, що у фізіологічних умовах вираженість процесів окислювального фосфорилування в клітині в багатьох випадках визначає швидкість перебігу реакцій гліколізу й глікогенолізу, які хоч і в меншій мірі є постачальниками необхідної кількості аденозинтрифосфату (АТФ). Головним механізмом, що прискорює швидкість гліколізу до інтенсивності окислювального фосфорилування та енергетичним потребам клітини, є контроль активності ферментів гліколізу і глікогенолізу. При цьому, особливе значення має алостерична регуляція активності ферментів гліколізу – гексокінази, фосфофруктокінази і піруваткінази, а також глікогенолізу – фосфорилази, які визначають перебіг усього процесу в цілому. Із літературних джерел переконливо доказано, що АТФ і цитрат є потужними алостеричними інгібіторами фосфофруктокінази, активність якої значно підвищується під впливом аденозиндифосфату (АДФ), аденозинмонофосфату (АМФ) і неорганічного фосфату [3,6]. Тобто, зменшення кількості АТФ, як результат роз'єднання окислення і фосфорилування, та накопичення АДФ, АМФ і неорганічного фосфату повинно призвести до активації фосфофруктокіназної реакції і в цілому до підвищення перетворення вуглеводів по гліколітичному шляху. Значний інтерес до цієї групи хімічних

сполук обумовлений великими обсягами виробництва, широким асортиментом продукції на їх основі та відсутністю прогностичної характеристики потенційної безпечності для теплокровних тварин і людини. «Полііоли» знайшли застосування в різних галузях народного господарства для отримання пластмас, пінопластів, поліуретанів, синтетичної шкіри, епоксидних смол, лаків, емалей, гідравлічних, гальмівних, охолоджуючих рідин та ін. [9]. Відсутність у науковій літературі відомостей про механізми розвитку пошкоджуючої дії «Полііолів», особливо нових марок, робить актуальними ці дослідження.

Метою роботи було дослідження впливу субтоксичних доз нової групи ксенобіотиків – «Полііолів» на вуглеводний обмін в умовах тривалого підгострого експерименту на білих щурах.

Об'єкт і методи дослідження. У роботі були використані «Полііоли» нових марок: Л-3003-2-60 (поліоксиетиленоксипропілентріол молекулярної маси 3000) і Л-3503-2-70 (поліоксиетиленоксипропілентріол молекулярної маси 3500) з регламентованими фізико-хімічними властивостями. За результатами гострої токсичності Л-3003-2-60 відноситься до помірнотоксичних, а Л-3503-2-70 – до слабботоксичних сполук, які не володіють кумулятивними властивостями, видовою й статеву чутливістю. Середньолетальні дози (DL_{50}) для білих щурів популяції Вістар були встановлені на рівнях 3,21 й 14,3 г/кг маси тварин, відповідно для Л-3003-2-60 і Л-3503-2-70 [9]. Відповідно до програми дослідження був проведений підгострий тривалий субтоксичний експеримент, в якому щури зазначеної популяції отримували пероральним шляхом водні розчини з розрахунку 1/100 і 1/1000 DL_{50} . Ксенобіотики вводилися внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда натщесерце вранці протягом 45 діб. Контрольні тварини отримували відповідний об'єм питної води. У кожній групі (4 дослідних та 1 контрольна) нараховувалося по 10 тварин. При виконанні експериментів дотримувалися принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних і інших наукових цілей». – Страсбург, 1985. По закінченні підгострого експерименту в печінці щурів визначали активність деяких ферментів енергетичного

Вплив «Поліолів» у субтоксичних дозах на деякі показники енергетичного й вуглеводного обміну в печінці щурів при підгострій токсифікації

Показники	Група спостереження, М±m				
	Контроль	Л-3003-2-60		Л-3503-2-70	
		1/100 ДЛ50	1/1000 ДЛ50	1/100 ДЛ50	1/1000 ДЛ50
АТФ, мкмоль/г	1,96±0,14	0,83±0,05*	1,92±0,16	0,87±0,07*	1,85±0,15
АДФ, мкмоль/г	1,29±0,11	0,74±0,06*	1,32±0,12	0,81±0,05*	1,24±0,09
АМФ, мкмоль/г	0,76±0,05	1,48±0,12*	0,79±0,06	1,36±0,14*	0,73±0,07
Креатинфосфат, мкмоль/г	1,14±0,08	0,56±0,04*	1,17±0,13	0,62±0,05*	1,21±0,08
Неорганічний фосфат, мкмоль/г	5,96±0,47	9,63±0,88*	6,10±0,54	9,24±0,73*	5,83±0,66
Глікоген, мкмоль/г	143,5±9,68	65,4±3,70*	135,4±10,7	72,6±5,2*	141,3±12,5
Г-6-ФДГ, мкмоль НАДФН/мг білка/год	0,57±0,06	1,25±0,13*	0,62±0,07	1,16±0,09*	0,55±0,06
КФК, мкмоль НАДФН /мг білка/год	8,52±0,74	4,30±0,86*	8,46±0,65	4,80±0,31*	8,37±0,74
ФФК, мкмоль тріоз/мг білка/год	6,35±0,42	10,40±0,85*	6,48±0,53	9,82±0,73*	6,64±0,57
Альдолаза, мкмоль тріоз/мг білка/год	6,7±0,53	13,8±1,14*	6,5±0,46	12,5±1,28*	7,13±0,68
Гексокіназа, мкмоль НАДФ Н ₂ /мг білка/год	16,50±1,22	35,70±2,10*	17,90±1,35	33,46±1,54*	16,24±1,43
ЛДГ, мкмоль НАД Н/ мг білка/год	52,4±3,75	87,6±4,40*	51,8±4,20	83,5±5,20*	55,7±4,80
Г-6-Фаза міросом фр., нмоль/хв мг білка/год	9,23±0,86	3,17±0,28*	8,92±0,74	3,87±0,35*	9,10±0,86

Примітка: * – різниця вірогідна (p < 0,05) з контролем.

обміну: глюкозо-6-фосфатази (Г-6-Фази), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), креатинфосфокінази (КФК), альдолази і лактатдегідрогенази (ЛДГ) загальноприйнятими методами [4,5,7,8]. Вміст глікогену в печінці визначали по Зейфтеру [7], АТФ – за методом E. Veutler [11], АДФ та АМФ – за методом D. Jowerek [12], креатинфосфат – за методом E. Ф. Солина [10], неорганічний фосфат – за методом, який описаний E. П. Мешковою і С. Є. Севериним [7]. Статистичне опрацювання отриманих результатів здійснювалося за допомогою критерія Стьюдента-Фішера.

Результати дослідження та їх обговорення.

Результати дослідження вуглеводного і енергетичного обміну в печінці тварин, що піддавалися тривалій субтоксичній дії «Поліолів», виявили динамічні зміни оціночних показників у групах тварин, токсифікованих 1/100 ДЛ₅₀. Так, було встановлено зниження в печінці вмісту АТФ, АДФ, креатинфосфату і глікогену, а також підвищення рівня АМФ, неорганічного фосфату і активності ферментів Г-6-ФДГ, ФФК, альдолази, гексокінази і ЛДГ на тлі пригнічення активності КФК і Г-6-Фази (табл.).

Вміст АТФ знижувався на 57,65% й 55,61%, АДФ – на 42,64% й 37,21%, креатинфосфату – на 50,88% й 45,61%, глікогену – на 54,43% й 49,41%, активність КФК – на 49,53% й 43,66%, Г-6-Фази – на 65,66% й 58,07%, відповідно під впливом Л-3003-2-60 і Л-3503-2-70. Аналіз показує, що за таких умов спостерігалось підвищення рівня АМФ на 94,74% й 78,95%, неорганічного фосфату – на 61,58% й 55,03%, активності Г-6-ФДГ – на 119,30% й 103,51%, ФФК – на 63,78% й 54,65%, альдолази – на 105,97% й 86,57%, гексокінази на 116,36% й 102,79%, ЛДГ –

на 65,66% й 58,08%, відповідно в групах тварин, токсифікованих Л-3003-2-60 і Л-3503-2-70.

Таким чином, дослідження свідчать, що «Поліоли» в 1/100 ДЛ₅₀ при тривалій субтоксичній дії в підгострому експерименті зменшують продукцію в печінці макроергічних сполук (АТФ, АДФ, креатинфосфату) і підвищують вміст АМФ і неорганічного фосфату. Це може вказувати на суттєві метаболічні розлади процесів дихання й окислювального фосфорилування в мітохондріях і розвиток тканинної гіпоксії, яка протікає на тлі виснаження резервного вуглеводу – глікогену. При цьому спостерігається значна активація анаеробного шляху синтезу АТФ у гліколітичному ланцюзі і підвищення активності пентозофосфатного циклу, що слід розглядати як суттєву напругу захисно-приспосувальних механізмів, які спрямовані на забезпечення гомеостатичної функції й відновлювальних синтезів в умовах токсичної дії ксенобіотиків. В 1/1000 ДЛ₅₀ «Поліоли» не впливали на вуглеводний та енергетичний обмін.

Висновки

1. Поліоли в дозі 1/100 ДЛ₅₀ зменшують продукцію в печінці макроергічних сполук (АТФ, АДФ, креатинфосфату) і підвищують вміст АМФ і неорганічного фосфату.

2. Виявлені метаболічні розлади при тривалій субтоксичній дії в підгострому експерименті слід розглядати як суттєву напругу захисно-приспосувальних механізмів

Перспективи подальших досліджень. У подальшій роботі ми плануємо дослідження впливу субтоксичних доз «Поліолів» на різні ланки білкового обміну.

Література

1. Биохимические аспекты экологической патологии, связанной с химическим загрязнением поверхностных источников / Н.Г. Щербань, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, Ю.К. Резуненко. – Харьков: «Раритеты Украины», 2011. – 176 с.
2. Биохимические механизмы радиомиметических эффектов поверхностно-активных веществ / Н.Г. Щербань, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, В.А. Капустник. – Харьков: «Раритеты Украины», 2012. – 120 с.
3. Денисов В.М. Биохимия миокарда, повреждённого адреналином / В.М. Денисов, С.М. Рукавишникова, В.И. Жуков. – Харьков: «Оригинал», 1999. – 184 с.
4. Колб В.Г. Справочник по клинической биохимии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Изд-во: Беларусь, Минск. – 1982. – 366 с.
5. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник под ред. проф. В.В. Меншикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
6. Метаболические процессы в организме при воздействии химических загрязнителей / А.И. Савлуков, Р.Ф. Камиллов, В.М. Самсонов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 7. – С. 33-39.
7. Мешкова Н.П. Практикум по биохимии / Н.П. Мешкова, С.Е. Северин. – М.: МГУ, 1979. – 428 с.
8. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике / А.А. Покровский. – М.: Медицина, 1969. – 652 с.
9. 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.
10. Сонин Е.Ф. Основы биохимии мышц / Е.Ф. Сонин. – К.: Изд-во Киевского университета. – 1960. – 181 с.
11. Beutler E. Method of enzymatic analysis / E. Beutler // New York. – 1975. – Vol. 1, № 3. – P. 565-566.
12. Jowerek D. Adenosin-5-diphosphat and Adenosin-5-monophosphat / D. Jowerek, W. Gruber, H.U. Bergmeyer // In: Bergmeyer H.U. (ed). Methoden der enzymatischen analyse. – Bd. II Wierhhecm. — Chemie. – 1974. – Vol. 5. – P. 2174-2181.

УДК: 577.121.7:577.124:616.36-092.9-099:543.395

ВПЛИВ «ПОЛІОЛІВ» У СУБТОКСИЧНИХ ДОЗАХ НА ВУГЛЕВОДНИЙ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН ПЕЧІНКИ ПРИ ТРИВАЛІЙ ДІЇ В ПІДГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

Денисенко С. А., Вишницька І. А., Жерновая М. Є.,

Резуненко Ю. К., Богданова І. В.

Резюме. Вивчено вплив поліоксietiленоксипропілентріолів молекулярної маси 3000 та 3500 («Поліоли» нових марок: Л-3003-2-60 і Л-3503-2-70 з регламентованими фізико-хімічними властивостями) в умовах тривалої субтоксичної дії на вуглеводний та енергетичний обмін в печінці теплокровних тварин в підгострому експерименті. Дослідження свідчать, що «Поліоли» в 1/100 ДЛ₅₀ при тривалій субтоксичній дії зменшують продукцію в печінці макроергічних сполук (АТФ, АДФ, креатинфосфату) і підвищують вміст АМФ і неорганічного фосфату. Це може вказувати на суттєві метаболічні розлади процесів дихання та окислювального фосфорилування в мітохондріях і розвиток тканинної гіпоксії, яка протікає на тлі виснаження резервного вуглеводу – глікогену. При цьому спостерігається значна активація анаеробного шляху синтезу АТФ у гліколітичному ланцюзі і підвищення активності пентозофосфатного циклу, що слід розглядати як суттєву напругу захисно-приспосувальних механізмів, які спрямовані на забезпечення гомеостатичної функції й відновлювальних синтезів в умовах токсичної дії ксенобіотиків. В 1/1000 ДЛ₅₀ «Поліоли» не впливали на вуглеводний та енергетичний обмін.

Ключові слова: ксенобіотики, поліоксietiленоксипропілентріол, щури, метаболізм.

УДК: 577.121.7:577.124:616.36-092.9-099:543.395

ВЛИЯНИЕ «ПОЛИОЛОВ» В СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ НА УГЛЕВОДНЫЙ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН ПЕЧЕНИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ В ПОДОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Денисенко С. А., Вишницкая И. А., Жерновая М. Е.,

Резуненко Ю. К., Богданова И. В.

Резюме. Изучено влияние полиоксиетиленоксипропиленгликолей молекулярной массы 3000 и 3500 («Полиоолы» новых марок: Л-3003-2-60 и Л-3503-2-70 с регламентированными физико-химическими свойствами) в условиях длительного субтоксического действия на углеводный и энергетический обмен в печени теплокровных животных в подостром эксперименте. Исследования показывают, что «Полиоолы» в 1/100 ДЛ₅₀ при длительном субтоксическом действии уменьшают продукцию в печени макроэргических соединений (АТФ, АДФ, креатинфосфата) и повышают содержание АМФ и неорганического фосфата. Это может указывать на существенные метаболические расстройства процессов дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях и развитие тканевой гипоксии, которая протекает на фоне истощения резервного углевода — гликогена. При этом наблюдается значительная активация анаэробного пути синтеза АТФ в гликолитической цепи и повышение активности пентозофосфатного цикла, это может свидетельствовать о существенном напряжении защитно-приспособительных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции и восстановительных синтезов в условиях токсического действия ксенобиотиков. В 1/1000 ДЛ₅₀ влияние «Полиоолов» на углеводный и энергетический обмен не выявлено.

Ключевые слова: ксенобиотики, полиоксиетиленоксипропиленгликоль, крысы, метаболізм.

UDC: 577.121.7:577.124:616.36-092.9-099:543.395

INFLUENCE OF POLYOLS IN SUBTOXIC DOSES ON CARBOHYDRATE AND ENERGY METABOLISM IN THE LIVER IN LONG-TERM SUBACUTE EXPERIMENT

Denisenko S. A., Wishnitskaya I. A., Zhernovaia M. Ye.,

Rezunencko U. K., Bogdanova I. V.

Abstract. The influence of polyoxyethylene hydroxypropylentriols of the molecular weight from 3,000 to 3,500 (polyols of new models: L-3003-2-60 and L-3503-2-70 with regulated physicochemical properties) under long subtoxic action on carbohydrate and energy metabolism in the liver of homoiothermal animals was studied in subacute experiment. According to the results of acute toxicity, L-3003-2-60 belongs to moderately toxic, and L-3503-2-70 refers to weakly toxic compounds that do not possess cumulative properties, species-dependent and gender-dependent sensitivity. DL50 for white Wistar rats was 3.21 and 14.3 g/kg, for L-3003-2-60 and L-3503-2-70, respectively. According to the research program the long-term subacute subtoxic experiment was carried out where rats received of the specified population received aqueous solutions on the basis of 1/100 and 1/1,000 of DL50 *per os*. Xenobiotics were administered intragastrically using a metal probe on an empty stomach in the morning during 45 days. Control animals received the appropriate volume of drinking water. Results of the investigation of carbohydrate and energy metabolism in the liver of animals, which had undergone prolonged action of subtoxic action of polyols showed dynamic changes of indicators in groups of animals toxified by 1/100 DL50. Thus, it was found that the content of ATP, ADP, creatine and glycogen decreased in the liver. The level of AMP, inorganic phosphate and activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase, phosphofructokinase, aldolase, LDH and hexokinase were elevated against the background of inhibition of CPK and glucose-6-phosphatase.

The ATP content decreased by 57.65% and 55.61%, ADP — 42.64% and 37.21%, creatine phosphate — 50.88% and 45.61%, glycogen — 54.43% and 49.41%, CPK activity — 49.53% and 43.66%, glucose-6-phosphatase — 65.66% and 58.07%, respectively, under the influence of L-3003-2-60 and L-3503-2-70. The analysis shows that under these conditions there is an increase of AMP by 94.74% and 78.95%, inorganic phosphate — 61.58% and 55.03%, glucose-6-phosphate dehydrogenase activity — 119.30% and 103.51%, phosphofructokinase — 63.78% and 54.65%, aldolase — 105.97% and 86.57%, hexokinase — 116.36% and 102.79%, LDH — 65.66% and 58.08%, respectively, in groups of animals toxified by L-3003-2-60 and L-3503-2-70.

Studies show that polyols in 1/100 DL50 during prolonged subtoxic action reduce production of macroergic compounds (ATP, ADP, creatine phosphate) in the liver and increase the content of AMP and inorganic phosphate. This may indicate serious metabolic disorders of tissue respiration and oxidative phosphorylation in mitochondria and development of tissue hypoxia, which takes place against the background of exhaustion of reserve carbohydrate called glycogen. Thus, there is a significant activation of anaerobic ATP synthesis in the glycolytic chain and the increased activity of pentose phosphate cycle, which should be considered to be a significant activation of protective and adaptive mechanisms aimed at ensuring homeostatic functions and redox synthesis during toxic effects of xenobiotics. In 1/1000 of DL50 polyols have no effect on carbohydrate and energy metabolism.

Keywords: xenobiotics, polyoxyethylene hydroxypropylentriols, rats, metabolism.

Рецензент — проф. Непорада К. С.

Стаття надійшла 05.05.2016 року