

- bulletin. - 2012. - Т. 15. - No. 3. - P.191 - 194.
7. Prostatropic effect of Betamid in the model of abacterial prostatitis in rats. Nizomov, N.A Zhukova, I.V. Sorokina // Urological statements. 2017 vol. 7. P.78-79.
8. Rat model of experimentally induced a bacterial prostatitis / M.D. Lang, J.C. Nickel, E. Olson Merle et al. // The Prostate. - 2000. - Vol. 45. - P.201- 206.
9. The use of Tambuil suppositories in rats with interstitial prostatitis (Experimental study) / EF. Stepanova, M.M. Evseeva, H.G. Karagulov // Scientific statements. Series Medicine. Pharmacy. 2011. № 22 (117). Issue 16/2. P.35-38.
10. Arnoldi E.K. Chronic prostatitis / EK Arnoldi - Rostov-on-Don: Phoenix, 1999. - 80 p.
11. Komyakov BK, Nazarov TH, Rizoiev Kh.H. Chronic obstructive prostatitis. - SPb. : Russian collection. - 2016. - 111 p.
- Впервые поступила в редакцию 09.09.2018 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК612.35.015: 599.323.4-092.9

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1434418>

ВПЛИВ АМІНОМЕТИЛІЗОНОНІЛФЕНОЛУ ТА ЙОГО ОКСИЕТИЛЬОВАНОГО ПОХІДНОГО НА ВМІСТ АДЕНОЗИНФОСФАТІВ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ

Сахарова І.В.

Одеський національний медичний університет

ВЛИЯНИЕ АМИНОМЕТИЛИЗОНОНИЛФЕНОЛА И ЕГО ОКСИЭТИЛИРОВАННОГО ПРОИЗВОДНОГО НА СОДЕРЖАНИЕ АДЕНОЗИНФОСФАТОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС

Сахарова И.В.

Одесский национальный медицинский университет

EFFECT OF AMINOMETHYLISONONYLPHENOL AND ITS OXYEITILIZED PRODUCTION ON THE CONTENT OF ADENOSINPHOSPHATES IN THE RATS OF THE RAT

Sakharova I.V.

Odessa National Medical University

Комплексне вивчення токсичної дії на організм хімічних факторів довіклля є актуальною проблемою сучасної медицини. Для оцінки адаптаційних можливостей організму до їх несприятливого впливу інформативним є вивчення енергетичного статусу клітин, який ґрунтується, перш за все, на метаболізмі аденозинфосфатів. Пріоритетними забруднювачами водних об'єктів навколишнього середовища, у тому числі й джерел водопостачання населення, є хімічні речовини технічної марки «Неонол» — амінометилізононілфенол (АМІНФ) та його оксиетильоване похідне з числом оксиетильних груп 4 (АМІНФ₄). Затравлення щурів протягом 30-ти діб АМІНФ та його оксиетильованим похідним у дозах 1/10 і 1/100 LD₅₀ супроводжується зниженням у гепатоцитах пулу АТФ при накопиченні пулу АМР, зниженням енергетичного потенціалу та заряду гепатоцитів, термодинамічного контролю їх дихання.

Порушення біоенергетичних процесів у гепатоцитах щурів на фоні перорального введення речовин свідчить про порушення функціонування ензимокомплексів мітохондріального дихального ланцюга внаслідок змін молекулярної організації мембран мітохондрій, спровокованих активацією окислювального стресу.

Ключові слова: довкілля, енергетичний статус клітин, аденозинфосфати.

Комплексное изучение токсического действия на организм химических факторов окружающей среды является актуальной проблемой современной медицины. Для оценки адаптационных возможностей организма к их неблагоприятного воздействия информативным является изучение энергетического статуса клеток, основанный, прежде всего, на метаболизме аденозинфосфатив. Приоритетными загрязнителями водных объектов окружающей среды, в том числе и источников водоснабжения населения, являются химические вещества технической марки «Неонол» — аминометилизонилфенол (АМИНФ) и его оксиэтилирования производное с числом оксиэтильных групп 4 (АМИНФ4). Зatrавленно крыс в течение 30-ти суток АМИНФ и его оксиэтилирования производным в дозах 1/10 и 1/100 LD50 сопровождается снижением в гепатоцитах пула АТФ при накоплении пула АМР, снижением энергетического потенциала и заряда гепатоцитов, термодинамического контроля их дыхания. Нарушение биоэнергетических процессов в гепатоцитах крыс на фоне перорального введения веществ свидетельствует о нарушении функционирования ензимокомплексив митохондриальной дыхательной цепи вследствие изменений молекулярной организации мембран митохондрій, спровоцированных активацией окислительного стресса.

Ключевые слова: окружающая среда, энергетический статус клеток, аденозинфосфаты.

Comprehensive study of toxic effects on the organism of chemical environmental factors is an actual problem of modern medicine. To assess the adaptive capacity of the organism to their adverse effect of the informative is the study of the energy status of cells, which is based primarily on the metabolism of adenosine phosphates. The priority pollutants of water bodies of the environment, including the sources of water supply of the population, are the chemical substances of the technical mark "Neonol" - aminomethylisononylphenol (AMINF) and its hydroxylated derivative with the number of oxyethyl groups 4 (AMINF4). Rat inoculation during 30 days of AMINF and its hydroxylated derivative at doses of 1/10 and 1/100 LD50 is accompanied by a decrease in hepatocytes in the APP pool with accumulation of AMP pool, decreased energy potential and charge of hepatocytes, thermodynamic control of their breathing. Violation of bioenergetic processes in hepatocytes of rats on the background of oral administration of substances indicates a violation of the functioning of the enzymocomplexes of the mitochondrial respiratory chain due to changes in the molecular organization of membranes of mitochondria, provoked by the activation of oxidative stress.

Key words: environment, energy status of cells, adenosine phosphates.

Комплексне вивчення токсичної дії на організм хімічних факторів довкілля є актуальною проблемою сучасної медицини [1, 2]. Для оцінки адаптаційних можливостей організму до їх несприят-

ливого впливу інформативним є вивчення енергетичного статусу клітин, який ґрунтується, перш за все, на метаболизмі аденозинфосфатів [3]. Приоритетними забруднювачами водних об'єктів навко-

лишнього середовища, у тому числі й джерел водопостачання населення, є хімічні речовини технічної марки «Неонол», синтезовані реакцією Манніха (конденсацією ізононілфенолу з тетраметилпропілентриаміном) — амінометилізононілфенол (АМІНФ) та його оксиетильоване похідне з числом оксиетильних груп 4 (АМІНФ₄). За хімічною будовою та фізико-хімічними властивостями дані речовини, з одного боку, є фенольними основами Манніха, а з іншого боку — іоногенними нітрогенвмісними поверхнево-активними речовинами (ПАР). Для АМІНФ та його оксиетильованих похідних відсутня повна інформація щодо ступеня їх впливу на здоров'я населення. Головним у системі заходів, спрямованих на виключення шкідливих наслідків хімізації довкілля, є дотримання допустимих рівнів впливу хімічних речовин. У встановленні останніх провідну роль відіграють комплексні токсиколого-гігієнічні дослідження, одним із етапів яких є виявлення особливостей токсичної дії на організм.

Метою даного дослідження було оцінити вплив амінометилізононілфенолу та його оксиетильованого похідного з числом оксиетильних груп 4 у дозах 1/10, 1/100 і 1/1000 LD₅₀ на вміст у печінці щурів аденозинфосфатів та індексів їх співвідношення.

Об'єкт і методи дослідження

У роботі використано хімічно чисті зразки АМІНФ та його похідного АМІНФ₄. Для експериментів відібрано статевозрілих щурів-самців популяції Wistar вагою 200-220 г, яким перорально вводили речовини щоденно однократно протягом 30 діб у дозах 1/10, 1/100 та 1/1000 LD₅₀. Середньолетальні дози (LD₅₀) дорівнювали для АМІНФ — 0,52 г/кг; АМІНФ₄ — 1,04 г/кг маси. Інтактним щурам вводили відповідну кількість питної води. Динаміку змін показників оцінювали на 30-ту добу після введення речовин. У кожній групі було по 6 тва-

рин.

Вміст АТФ у печінці визначали спектрофотометричним методом [4], що ґрунтується на гексокіназній реакції фосфорилування глюкози у присутності АТФ з утворенням глюкозо-6-фосфату та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназній реакції окислення глюкозо-6 фосфату з відновленням NADP, в якій кількість АТФ, що прореагувала, еквімолярна кількості NADPH. Реакційне середовище містило тканинний екстракт, трис-НСІ буфер (рН 7,5), MgCl₂, NADP, глюкозу, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу. Рівень ADP та AMP у печінці щурів визначали спектрофотометричним методом [5], що ґрунтується на реакціях: фосфорилування міокіназою AMP у присутності АТФ з утворенням ADP; фосфорилування піруваткіназою ADP у присутності фосфоенолпірувату з утворенням пірувату. Вміст пірувату оцінювали за реакцією з NADH і лактатдегідрогеназою. Реакційне середовище містило тканинний екстракт, триетаноламіновий буфер (рН 7,55), фосфоенолпіруват, NAD, лактатдегідрогеназу. Тканинний екстракт отримували, використовуючи 6 % розчин хлорної кислоти для екстракції кислоторозчинних речовин; екстракт гомогенізували, гомогенат центрифугували при 3000 g, безбілковий екстракт нейтралізували 5 М карбонатом калію. У надосадовій фракції визначали вміст аденозинфосфатів. При статистичному опрацюванні одержаних результатів у вибірках з нормальним розподілом застосовували параметричні характеристики — середнє значення показника (M) та стандартну помилку (m). Порівняння вибірок між собою проводили за критерієм Стьюдента, приймаючи за критичний рівень значущості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

На 30-ту добу затравлення щурів АМІНФ та АМІНФ₄ у дозі 1/10 LD₅₀ у печінці визначалось при порівнянні з інтактними тваринами зниження ($p <$

0,05) рівня АТФ та АДФ при підвищенні ($p < 0,05$) рівня АМФ. Введення щурів АМІНФ та АМІНФ₄ у дозі 1/100 LD₅₀ характеризувалось іншою динамікою змін вмісту аденозинфосфатів: зниженням ($p < 0,05$) АТФ на фоні підвищення ($p < 0,05$) АДФ та АМФ. Затравлення експериментальних тварин досліджуваними хімічними речовинами у дозі 1/1000 LD₅₀ на супроводжувалось будь-якими змінами ($p > 0,05$) рівня аденозинфосфатів (табл. 1).

Виявлене зниження рівня АТФ у гепатоцитах щурів при пероральному введенні АМІНФ та АМІНФ₄ у дозах 1/10 та 1/100 LD₅₀ ймовірно пов'язано з посиленням його розпаду та виходом з клітин. У випадку дії речовин у дозі 1/100 LD₅₀ посилений розпад АТФ відбувається з підвищенням пулу АДФ та АМФ, а у випадку дози 1/10 LD₅₀ — зі зниженням пулу АДФ та підвищенням пулу АМФ. Зниження вмісту АТФ у гепатоцитах щурів, затравлених АМІНФ та його оксигетильованим похідним, може призвести до негативних наслідків, наприклад, до зниження рН середовища внаслідок посилення анаеробного окислення глюкози з накопиченням молочної та піровиноградної кислот, що сприяє, у свою чергу, виходу лізосомальних гідролаз та погіршенню фізико-хімічних властивостей білків [6]. З іншого боку, зниження пулу

АТФ у клітинах так чи інакше супроводжується пригніченням анаболічних процесів. Одержані результати свідчать про недостатню потужність системи окисного фосфорилування у мітохондріях гепатоцитів щурів для того, щоб компенсувати витрати АТФ для роботи систем, що його споживають. Ураховуючи попередні результати щодо активації процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в організмі щурів при затравленні досліджуваними хімічними речовинами можна передбачати, що саме це призводить до пригнічення окисного фосфорилування та зниження рівня АТФ. Інтенсифікація реакцій ПОЛ на фоні енергодефіциту, у свою чергу, спряжено з порушенням метаболізму АТФ і мембранних фосфоліпідів, стану мінерального обміну (зокрема, кальцієвим переваженням клітин) [7].

Для більш глибокої характеристики змін енергетичного балансу, спряжених з реакціями синтезу та утилізації АТФ, звичайно обчислюють деякі індекси співвідношень аденозинфосфатів [8] (табл. 2).

Результати свідчили про зниження наприкінці підгострого експерименту у піддослідних тварин ($p < 0,05$) при порівнянні з інтактними енергетичного потенціалу (АТФ/АДФ) гепатоцитів при затравленні АМІНФ та АМІНФ₄ у дозах 1/10

та 1/100 LD₅₀. Такі зміни відображують зниження швидкості процесів дихання у мітохондріях гепатоцитів щурів. На 30-ту добу затравлення щурів АМІНФ та АМІНФ₄ спостерігалось також зниження ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами енергетичного заряду гепатоцитів (АТФ + 0,5 АДФ) /

Таблиця 1

Вплив амінометилізононілфенолу та його оксигетильованих похідних на вміст аденозинфосфатів у печінці щурів (30-та доба, $n = 6$, $M \pm m$)

Речовина	Доза, 1/10 LD ₅₀	АТФ, мкМ/г тканини	АДФ, мкМ/г тканини	АМФ, мкМ/г тканини
АМІНФ	1/10	0,88 ± 0,07 $p < 0,05$	0,90 ± 0,08 $p < 0,05$	1,89 ± 0,07 $p < 0,05$
	1/100	1,22 ± 0,10 $p < 0,05$	1,83 ± 0,06 $p < 0,05$	1,36 ± 0,06 $p < 0,05$
	1/1000	2,46 ± 0,16 $p > 0,05$	1,17 ± 0,1 $p > 0,05$	0,94 ± 0,08 $p > 0,05$
АМІНФ ₄	1/10	1,04 ± 0,06 $p < 0,05$	1,02 ± 0,06 $p < 0,05$	1,74 ± 0,06 $p < 0,05$
	1/100	1,33 ± 0,09 $p < 0,05$	1,96 ± 0,04 $p < 0,05$	1,28 ± 0,04 $p < 0,05$
	1/1000	2,56 ± 0,15 $p > 0,05$	1,25 ± 0,07 $p > 0,05$	0,9 ± 0,09 $p > 0,05$
Контроль		2,28 ± 0,18	1,21 ± 0,07	0,83 ± 0,09

Примітка: p — вірогідність відмінностей з інтактними тваринами

(*ATP+ADP+AMP*) в середньому на 43 та 26 % відповідно для 1/10 та 1/100 LD₅₀, що відображує перевищення реакцій утилізації *ATP* над реакціями його синтезу. Останнє підтверджувало також обчислення індексу співвідношення рівня *ADP* до рівня *AMP* у печінці піддослідних тварин, який трактують як термодинамічний контроль дихання, що свідчило при його зниження ($p < 0,05$) при зіставленні з контролем в середньому на 66 та 13 % відповідно при затравленні дозами 1/10 та 1/100 LD₅₀. З іншого боку, такий результат відображає стан роз'єднання процесів дихання та фосфорилування у мітохондріальному дихальному ланцюгу гепатоцитів піддослідних тварин.

У цілому одержані результати відображують порушення балансу аденозинфосфатного пулу зі зміною енергетичного стану гепатоцитів щурів, яким вводили АМІНФ та його оксиетильовані похідні. Наслідком таких змін є, як правило, зниження адаптаційних можливостей організму при дії хімічних факторів довкілля. Також в умовах енергодефіциту та недостатності кисню як акцептора електронів, компоненти клітин становляться більш відновленими та можуть передавати електрони або безпосередньо на кисень, або на низькомолекулярні посередники, які ініціюють окислювальний стрес. Ці результати добре узгоджуються з результатами по вивченню біологічної дії оксиетильованих нонілфенолів та їх похідних — натрієвих солей карбоксиметилатів оксиетильованих ізонілфенолів, які за будовою молекул та фізико-хімічними властивостями також належать до групи іоногенних ПАР [9].

Таблиця 2

Вплив амінометилізонілфенолу та його оксиетильованих похідних на показники енергетичного гомеостазу у гепатоцитах щурів (30-та доба, $n = 6$, $M \pm m$)

Речовина	Доза, LD ₅₀	Енергетичний потенціал	Енергетичний заряд	Термодинамічний контроль дихання
АМІНФ	1/10	1,01 ± 0,10 $p < 0,05$	0,36 ± 0,02 $p < 0,05$	0,47 ± 0,03 $p < 0,05$
	1/100	0,67 ± 0,05 $p < 0,05$	0,48 ± 0,02 $p < 0,05$	1,36 ± 0,08 $p < 0,05$
АМІНФ ₄	1/10	1,03 ± 0,08 $p < 0,05$	0,41 ± 0,01 $p < 0,05$	0,59 ± 0,05 $p < 0,05$
	1/100	0,68 ± 0,06 $p < 0,05$	0,51 ± 0,03 $p < 0,05$	1,53 ± 0,04 $p < 0,05$
Контроль		1,91 ± 0,16	0,66 ± 0,02	1,57 ± 0,24

Примітка: p — вірогідність відмінностей з інтактними тваринами

Висновки

1. Затравлення щурів протягом 30-ти днів АМІНФ та його оксиетильованим похідним у дозах 1/10 і 1/100 LD₅₀ супроводжується зниженням у гепатоцитах пулу *ATP* при накопиченні пулу *AMP*, зниженням енергетичного потенціалу та заряду гепатоцитів, термодинамічного контролю їх дихання. Порушення біоенергетичних процесів у гепатоцитах щурів на фоні перорального введення речовин свідчить про порушення функціонування ензимокмплесів мітохондріального дихального ланцюга внаслідок змін молекулярної організації мембран мітохондрій, спровокованих активацією окислювального стресу.
2. Ступінь порушень вмісту аденозинфосфатів у печінці щурів залежить від дози АМІНФ та його оксиетильованого похідного: токсичною вважається 1/10 LD₅₀, діючою — 1/100 LD₅₀, недіючою — 1/1000 LD₅₀.

Література

1. Ларионов М. В. Обзор научной литературы по проблеме влияния экологических факторов на здоровье человека / М. В. Ларионов, В. Б. Любимов, Т. А. Перевозчикова // *Фундаментальные исследования*. — 2015. — № 2-6. — С. 1204-1210.
2. Баренбойм Г. М. Оценка биологической опасности органических ксенобиотиков / Г. М. Баренбойм, М. А. Чиганова,

- А. В. Аксенов // Методы оценки соответствия. — 2011. — № 7. — С. 28-33.
3. Энергетический обмен клетки в норме и патологии. Возможности его оценки / Н. В. Нагорная, Н. А. Четверик, А. А. Федорова [и др.] // Здоровье ребенка. — 2008. — Т. 6, № 15. — С. 69-71.
 4. Beutler H.O. Methods of enzymatic analysis / H.O. Beutler. — New York: Academic Press, 1975. — P. 565-566.
 5. Jowerek D. Methods of enzymatic analysis / D. Jowerek, W.Gruber, H.U.Bergmeyer. — New York, London: Academic Press Inc, 1974. — P. 2127-2131.
 6. Energy metabolism in eukaryotes biochemistry and evolution of anaerobic / M. Myller, M. Mentel, J. J. Hellemond [et al.] // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2012. — Vol. 76, № 2. — P. 444-495.
 7. Дворщенко К. Зміни енергетичного балансу печінки та підшлункової залози щурів при гіпоацидному стані шлунка та пошук підходів до його відновлення / К. Дворщенко // Вісник Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. Серія — біологія. — 2014. — № 3 (68). — С. 54-57.
 8. Высоцкий И. Ю. Влияние метаботропных препаратов на некоторые показатели энергетического обмена в условиях острого токсического поражения печени летучими компонентами эпоксидной смолы ЭД-20 / И. Ю. Высоцкий, Е. И. Высоцкая // Вісний СумДУ. Серія Медицина. — 2009. — № 1. — С. 15-21.
 9. Маракушин Д. І. Вплив оксиетильованих нонілфенолів на активність дихального ланцюга мітохондрій гепатоцитів щурів / Д. І. Маракушин // Експериментальна і клінічна медицина. — 2016. — № 1 (70). — С. 47-51.
 2. Barenboim GM Estimation of Biological Hazards of Organic Xenobiotics / GM Barenboim, MA Chiganova, AV Aksenov / Methods of Conformity Assessment. — 2011. — No. 7. — P. 28-33.
 3. Energy exchange of cells in normal and pathology. Possibilities of its evaluation / NV Nagornaya, NA Chetverik, AA Fedorova [and others] // Child's health. — 2008. — T. 6, No. 15. — P. 69-71.
 4. Beutler H.O. Methods of enzymatic analysis / H.O. Beutler. — New York: Academic Press, 1975. — P. 565-566.
 5. Jowerek D. Methods of enzymatic analysis / D. Jowerek, W. Gruber, H. U. Bergmeyer. — New York, London: Academic Press Inc, 1974. — P. 2127-2131.
 6. Energy metabolism in eukaryotes biochemistry and evolution of anaerobic / M. Myller, M. Mentel, J. J. Hellemond [et al.] // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2012. — Vol. 76, No. 2. — P. 444-495.
 7. Dvorschenko K. Changes in the energy balance of the liver and pancreas of rats at the hypocidic state of the stomach and the search for approaches to its recovery / K. Dvorschenko // Bulletin of the Kiev National University named after. Taras Shevchenko. Series — Biology. — 2014 — No. 3 (68). — P. 54-57.
 8. Vysotsky I.Yu. Influence of metabotropic drugs on some parameters of energy metabolism in conditions of acute toxic liver damage with volatile components of epoxy resin ED-20 / I. Yu. Vysotsky, EI Vysotskaya // Вісний СУДУ. Серія Медицина. — 2009. — No. 1. — P. 15-21.
 9. Marakushin D.I. Flushing of oxyethylenated nonylphenols on the activity of the dichlorous lancuge of the mitochondria hepatocytes schuriv / D.I.Marakushin // Experimental and Clinical Medicine. — 2016. — No. 1 (70). — P. 47-51.

References

1. Larionov MV A review of scientific literature on the problem of the influence of environmental factors on human health / MV Larionov, VB Lyubimov, TA Perevozchikova // Fundamental research. — 2015. — № 2-6. — P. 1204-1210.

*Впервые поступила в редакцию 29.08.2018 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*