

УДК 577.124:577.121.7:543.395:616-099-036.11-092.9

*О.А. Наконечна, С.О. Стеценко, Р.О. Бачинський, М.Є. Жернова\*,  
П.В. Оветчин, Н.М. Костилєва\*\**

*Харківський національний медичний університет*

*\*Луганський державний медичний університет*

*\*\* Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ*

## **ВПЛИВ ПОЛІОКСИПРОПІЛЕНГЛІКОЛЮ МОЛЕКУЛЯРНОЇ МАСИ 500 НА ПОКАЗНИКИ ВУГЛЕВОДНОГО Й ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ПРИ СУБТОКСИЧНІЙ ДІЇ В ПІДГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ**

Вивчено вплив малих субтоксичних доз поліоксипропіленгліколю молекулярної маси 500 на деякі показники вуглеводного й енергетичного обміну в умовах підгострої токсифікації та обґрунтовано чутливі тести ранньої діагностики порушення гомеостазу. Результати дослідження вмісту глюкози в крові на 60-ту добу токсифікації тварин показали значне його зниження під впливом 1/10 і 1/100 ДЛ<sub>50</sub> порівняно з групою контролю. Вивчення метаболічної активності мітохондрій гепатоцитів показало зниження активності Mg<sup>2+</sup>-АТФази, Са<sup>2+</sup>-АТФази, Н<sup>+</sup>-АТФази у шурів, токсифікованих 1/10 і 1/100 ДЛ<sub>50</sub>.

**Ключові слова:** поліоксипропіленгліколь, ксенобіотики, вуглеводний та енергетичний обмін.

Живі організми, як відкриті системи, знаходяться в постійному обміні енергією з навколишнім середовищем. Багаточисельні шляхи обміну тісно поєднані між собою й лежать в основі найважливіших функцій, властивих усім організмам. Безперервні процеси синтезу й розпаду складних біоорганічних речовин обумовлюють стабільність лабільних структур організму, їх відтворення, оновлення й помноження, які необхідні для підтримки гомеостазу. Відомо, що провідним фактором в його забезпеченні виступає метаболізм [1, 2]. Дисфункція метаболізму лежить в основі порушення основних функцій і систем живого організму. Тому розвиток патологічних станів необхідно шукати в розкритті механізмів біологічної дії хімічних сполук у тісному зв'язку з розвитком структурно-метаболічних порушень в різних органах, системах і функціях організму [1]. Це дає змогу обґрунтувати вплив ксенобіотиків на найбільш чутливі органи, системи й функції організму і виділити критеріально-значущі показники донозологічної діагностики ранніх порушень гомеостатичної функції організму. В останні роки змінюються уявлення про пускові механізми розвитку дисбалансу гомеостазу. Вважається, що провідну роль у розвитку метаболічних порушень відіграють біологічні

мембрани як активні регулятори біоенергетичних процесів і внутрішньоклітинного метаболізму.

Порушення під впливом токсичних хімічних факторів структурних компонентів мембран, особливо фосфоліпідів і білків, є сигналом для вторинних посередників – циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ) і циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ) щодо необхідності функціональної перебудови внутрішньоклітинного метаболізму й біоенергетичних процесів [2]. У зв'язку з єдністю структури, метаболізму й функції пошук критеріально-значущих показників діагностики донозологічних порушень в організмі при дії чужорідних сполук слід проводити, перш за все, досліджуючи структурно-функціональний стан мембран, внутрішньоклітинний метаболізм, процеси біоенергетики та механізми регуляції життєдіяльності в кооперативній взаємодії інтегративних систем контролю гомеостатичної функції організму [3]. Багато запитань, що пов'язані з розумінням патохімічних механізмів виникнення патологічних станів і захворювань, тісно поєднані з порушенням обміну речовин і енергії, розкриттям основних структурно-метаболічних особливостей пошкоджуючої дії хімічних речовин на білковий, ліпідний, вуглеводний,

© О.А. Наконечна, С.О. Стеценко, Р.О. Бачинський та ін., 2015

мінеральний, нуклеїновий обмін та енергетичні процеси. Тому дослідження впливу хімічних факторів на метаболізм і біоенергетичні процеси є актуальною медико-біологічною проблемою [3].

Метою роботи було вивчення впливу малих субтоксичних доз поліоксипропіленгліколю молекулярної маси 500 на деякі показники вуглеводного й енергетичного обміну в умовах підгострої токсифікації й обґрунтування чутливих тестів ранньої діагностики порушення гомеостазу.

**Матеріал і методи.** Вибір поліоксипропіленгліколю молекулярної маси 500, що має товарну назву Лапрол (Л-502-2-10), було обґрунтовано необхідністю розкриття патохімічних механізмів структурно-метаболических порушень, що виникають при тривалій субтоксичній дії ксенобіотика, його великими обсягами виробництва й розповсюдженням контактом з людьми в умовах виробництва. За агрегатним станом Л-502-2-10 являє собою прозору в'язку рідину з регламентованими фізико-хімічними властивостями. Згідно з параметрами гострої токсичності Лапрол відноситься до помірно токсичних сполук, яким не властиві кумуляція, видова й статева чутливість [4]. Середньолетальні дози ( $DL_{50}$ ) були встановлені в межах 1,83 і 2,13 г/кг маси тварин відповідно для білих щурів і мишей [4]. Дослідження передбачали проведення підгострого 60-добового токсикологічного експерименту на білих статевозрілих щурах WAG масою 180–190 г. Відповідно до умов експерименту тварини щоденно вранці до отримання їжі підлягали токсифікації Лапролом у дозах 1/10, 1/100 й 1/1000  $DL_{50}$ . Ксенобіотик у вигляді водних розчинів вводився внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда. Контрольна група тварин отримувала відповідні об'єми питної води. У кожній групі нараховувалося по 10 тварин. Усі експерименти на тваринах були проведені з дотри-

манням принципів біоетики й «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Програма дослідження передбачала після закінчення тривалої токсифікації вивчення показників стану енергетичного й вуглеводного обміну. Загальноприйнятими методами в печінці визначали активність  $Ca^{2+}$ - і  $Mg^{2+}$ -залежної АТФази,  $H^+$ -АТФази мітохондрій гепатоцитів, гексокінази, фосфофруктокінази (ФФК), альдолази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), креатинфосфокінази (КФК), глюкозо-6-фосфатази (Г-6-Фази) в мікросомах гепатоцитів і вміст глікогену в печінці [5–7]. У сироватці крові визначали вміст глюкози, а також активність лужної фосфатази (ЛФ), КФК, серцевої фракції КФК (КФК-МВ) і ЛДГ з використанням наборів реагентів фірми Сone lab, Фінляндія, й Roche, Швейцарія, на біохімічному автоматичному поліаналізаторі Cobas міга фірми Хофман-ля-РОШ, Австрія–Швейцарія. Цифрові дані статистично обробили з використанням критерію Стьюдента–Фішера.

**Результати та їх обговорення.** Вміст глюкози в крові на 60-ту добу токсифікації тварин під впливом 1/10 й 1/100  $DL_{50}$  значно знизився порівняно з таким в групі контролю на 57,20 й 39,69 % відповідно (табл. 1). На цьому тлі спостерігалось підвищення активності в сироватці крові ЛДГ на 213,8 і 124,1 % у групах тварин, токсифікованих відповідно 1/10 й 1/100  $DL_{50}$ . Суттєве зростання активності ЛДГ і зниження вмісту глюкози в крові може свідчити про порушення вуглеводного обміну й енергетичних процесів, що тісно поєднані з інтенсивністю дії токсичного чинника на організм.

Аналіз активності в сироватці крові КФК, КФК-МВ і ЛФ виявив їх підвищення в групі тварин, токсифікованих як 1/10, так і 1/100  $DL_{50}$ .

Таблиця 1. Вплив Л-502-2-10 на показники вуглеводного й енергетичного обміну в сироватці крові при дії ксенобіотика на 60-ту добу експерименту ( $M \pm m$ )

Показник	Групи спостереження, $DL_{50}$			
	контроль	1/10	1/100	1/1000
Глюкоза, ммоль/л	5,14±0,56	2,2±0,28*	3,1±0,43*	5,40±0,35
ЛФ, У/Л	97,3±6,27	327,4±12,63*	285,3±14,61*	105,4±7,12
КФК, моль/л	108,4±7,5	246,3±8,4*	182,6±7,13*	116,3±9,4
КФК-МВ, мкмоль/л	9,4±0,83	24,8±1,36*	17,6±2,14*	9,2±0,78
ЛДГ загальна, У/Л	145,7±9,4	457,2±26,3*	326,5±21,7*	138,4±12,5

Примітка. \*  $p < 0,05$ .

Активність ЛФ зростала в порівнянні з контролем на 236,48 і 193,21 %, КФК – на 127,21 і 68,45 %, КФК-МВ – на 163,82 і 87,23 %. Причому активність цих ферментів була поєднана з дозою ксенобіотика, що впливав на організм, і свідчила про структурно-метаболічні розлади й дисфункцію біоенергетичних процесів. Ксенобіотик Л-502-2-10 у дозі 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> не впливав на вуглеводний обмін і біоенергетику.

Оцінка метаболічної активності мітохондрій гепатоцитів виявила зниження активності Mg<sup>2+</sup>-АТФази на 54 і 38,8 %, Ca<sup>2+</sup>-АТФази – на 51,3 і 29,6 %, Н<sup>+</sup>-АТФази – на 56 і 27,4 % у щурів, токсифікованих, відповідно 1/10 й 1/100 ДЛ<sub>50</sub> (табл. 2). Ці дані вказують, що

форилування в більшій дозі та його активацію в меншій. Така ж динаміка активності була властива ФФК і альдолазі. Активність ФФК знижувалася на 16,4 % і підвищувалася на 61,6 %, а альдолази пригнічувалася на 41,2 % і підвищувалася на 78,3 % відповідно в групах тварин, токсифікованих 1/10 й 1/100 ДЛ<sub>50</sub>. Активність ЛДГ розчинної фракції гепатоцитів, токсифікованих 1/10 ДЛ<sub>50</sub>, знижувалася на 25 %, а 1/100 ДЛ<sub>50</sub> – зростала на 29 %. Активність ЛДГ мітохондріальної фракції гепатоцитів знижувалася під впливом як 1/10, так і 1/100 ДЛ<sub>50</sub> відповідно на 63,0 і 42,3 %. Дослідження активності Г-6-ФДГ виявило її пригнічення на 34,9 % і підвищення на 107,0 % відповідно при дії 1/10 і 1/100 ДЛ<sub>50</sub>.

Таблиця 2. Вплив Л-502-2-10 на показники вуглеводного й енергетичного обміну в печінці на 60-ту добу експерименту (M±m)

Показник	Групи спостереження, ДЛ <sub>50</sub>			
	контроль	1/10	1/100	1/1000
Mg <sup>2+</sup> -АТФаза <sup>a</sup>	81,35±5,26	37,45±2,68*	56,3±3,4*	84,17±6,32
Ca <sup>2+</sup> -АТФаза <sup>a</sup>	70,42±4,63	34,27±2,1*	49,6±2,8*	72,35±5,63
H <sup>+</sup> -АТФаза <sup>a</sup>	74,65±6,22	32,65±1,78*	54,2±3,7*	71,54±7,26
Гексокіназа <sup>b</sup>				
розчинна фракція	18,33±1,65	13,7±1,24*	26,2±1,43*	20,14±1,73
мітохондріальна фракція	5,14±0,64	2,2±0,07*	3,5±0,28*	6,05±0,72
ФФК <sup>c</sup>	7,3±0,68	6,1±0,52*	11,8±0,96*	6,9±0,57
Альдолаза <sup>c</sup>	13,8±1,15	8,12±0,76*	24,6±1,25*	14,5±1,26
ЛДГ <sup>d</sup>				
розчинна фракція	135,6±7,28	102,4±5,63*	174,8±6,2*	141,3±8,54
мітохондріальна фракція	44,17±3,12	16,35±1,24*	23,72±1,35*	46,80±3,75
Г-6-ФДГ <sup>e</sup>	0,43±0,003	0,28±0,004	0,89±0,06*	0,45±0,04
КФК мітохондрій <sup>e</sup>	13,6±1,15	4,83±0,52*	9,43±0,65*	14,27±1,36
КФК цитозолі <sup>e</sup>	10,73±0,94	3,87±0,46*	6,35±0,54*	11,28±0,77
Г-6-Фаза, нмоль/(хв·мг) білка	9,68±0,84	4,27±0,38*	6,53±0,62*	10,14±0,95
Глікоген, мкмоль глюкози/г печінки	147,5±7,68	22,64±3,55*	61,70±4,23*	138,5±6,24

Примітка. \* p < 0,05; <sup>a</sup> – мкмоль Рн/мг білка · 1 год; <sup>b</sup> – мкмоль НАДФ·Н<sub>2</sub>/(мг білка · 1 год); <sup>c</sup> – мкмоль тріоз/(мг білка · 1 год).

Л-502-2-10 здатний пригнічувати дихальний ланцюг і роз'єднувати окиснення й фосфорилування. При таких умовах слід очікувати зниження процесів синтезу АТФ із АДФ і неорганічного фосфату, що часто спостерігається при розвитку мембранної патології й гіпоксичних станах [1–4]. Дослідження розчинної фракції гексокінази в гепатоцитах виявили її пригнічення на 23,3 % при дії 1/10 ДЛ<sub>50</sub> та активацію на 42,9 % в групі тварин, токсифікованих 1/100 ДЛ<sub>50</sub>. Активність мітохондріальної фракції гексокінази була знижена на 57,2 % й підвищена на 31,1 % відповідно під впливом 1/10 й 1/100 ДЛ<sub>50</sub>, що вказувало на пригнічення субстратного фос-

Динаміка активності Г-6-ФДГ свідчить про те, що ксенобіотик в 1/100 ДЛ<sub>50</sub> стимулює синтез відновлювальних еквівалентів і вказує на значну напругу захисно-приспосувальних механізмів, спрямованих на підтримку гомеостатичної функції організму, тоді як в 1/10 ДЛ<sub>50</sub> призводить до їх зриву й розвитку структурно-метаболічних порушень. Діагностика активності КФК у мітохондріях гепатоцитів і цитозолі, а також Г-6-Фази в мікросомах гепатоцитів виявила їх зниження в усіх групах спостереження під впливом як 1/10, так і 1/100 ДЛ<sub>50</sub> (див. табл. 1). Так, активність КФК у мітохондріях знижувалася на 64,5 і 30,7 %, у цитозолі гепатоцитів печінкової тканини –

на 63,94 і 40,83 %, Г-6-Фази – на 55,9 і 32,55 % в групах, токсифікованих Л-502-2-10 відповідно 1/10 й 1/100 ДЛ<sub>50</sub>. На цьому тлі вміст глікогену знижувався в печінці на 84,7 і 58,2 % під впливом 1/10 й 1/100 ДЛ<sub>50</sub>, що свідчило про токсичне навантаження й активацію глікогенолізу.

### Висновки

1. Встановлено, що ксенобіотик Л-502-2-10 у дозі 1/10 ДЛ<sub>50</sub> порушує вуглеводний обмін на тлі пригнічення біоенергетичних процесів і розвитку тканинної гіпоксії; у дозі 1/100 ДЛ<sub>50</sub> призводить до значної напруги захисно-приспосувальних механізмів, які супроводжуються також порушеннями вуглеводного обміну, пригніченням тканинного

дихання й окислювального фосфорилування на тлі активації анаеробного гліколізу, пентозофосфатного шунта й відновлювальних синтезів. У дозі 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> ксенобіотик не впливав на вуглеводний обмін і процеси біоенергетичного гомеостазу.

2. Зниження вмісту глюкози в крові й глікогену в печінці можна розглядати як результат зриву захисно-приспосувальних механізмів, що супроводжуються мембранною патологією й значним пригніченням біоенергетичних процесів, що виникають в умовах токсичної дії ксенобіотиків.

**Перспективи подальших досліджень** – вивчення впливу поліоксипропіленгліколю з молекулярною масою 500 на ліпідний обмін в організмі щурів.

### Література

1. Детергенты – модуляторы радиомиметических эффектов / В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, Ю.И. Козин и др. – Белгород, 2000. – 376 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. Щербань Н.Г. Оценка рисков здоровья населения от опасных отходов (Биохимические аспекты) / Н.Г. Щербань, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов. – Харьков: Апостроф, 2010. – 154 с.
4. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов / В.И. Жуков, Л.Д. Попова, О.В. Зайцева и др. – Харьков: Торнадо, 2000. – 435 с.
5. Мешкова Н.П. Практикум по биохимии / Н.П. Мешкова, С.Е. Северин. – М.: МГУ, 1979. – 428 с.
6. Колб В.Г. Справочник по клинической биохимии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1982. – 366 с.
7. Архипова О.Г. Методы исследования в профпатологии / О.Г. Архипова – М.: Медицина, 1988. – 207 с.

### **О.А. Наконечная, С.А. Стеценко, Р.О. Бачинский, М.Е. Жерновая, П.В. Овetchин, Н.М. Костылева** ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИПРОПИЛЕНГЛИКОЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ 500 НА ПОКАЗАТЕЛИ УГЛЕВОДНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ПРИ СУБТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ В ПОДОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Изучено влияние малых субтоксических доз полиоксипропиленгликоля молекулярной массы 500 на некоторые показатели углеводного и энергетического обмена в условиях подострой токсификации и обоснованы чувствительные тесты ранней диагностики нарушения гомеостаза. Результаты исследования содержания глюкозы в крови на 60-е сутки токсификации животных показали значительное его снижение по сравнению с таковым в группе контроля под влиянием 1/10 и 1/100 ДЛ<sub>50</sub>. Изучение метаболической активности митохондрий гепатоцитов показало снижение активности Mg<sup>2+</sup>-АТФазы, Ca<sup>2+</sup>-АТФазы, H<sup>+</sup>-АТФазы у крыс, токсификованих 1/10 и 1/100 ДЛ<sub>50</sub>.

**Ключевые слова:** полиоксипропиленгликоль, ксенобіотики, углеводный и энергетический обмен.

### **O.A. Nakonechna, S.O. Stetzenko, R.O. Bachinskiy, M.Ye. Zhernovaia, P.V. Ovetchin, N.M. Kostylieva** POLYOXIPROPILENGLYKOLES WITH 500 MOLECULAR MASS INFLUENCE ON CARBOHYDRATE AND ENERGY METABOLISM INDEXES UNDER SUBTOXIC ACTION IN SUBACUTE EXPERIMENT

The influence of small subtoxic polyoxipropilenglykole with 500 molecular mass doses on several carbohydrate and energy metabolism indexes under subacute toxification conditions and foundation of early sensitive diagnostic tests for homeostasis violation have been studied. Results of the blood glucose level investigation on 60th day of animal toxification showed a significant decrease in comparison with the control group, correspondently under the 1/10 and 1/100 DL<sub>50</sub> influence. Evaluation of the metabolic activity of hepatocyte mitochondria revealed the reduced activity of Mg<sup>2+</sup>-ATPase, Ca<sup>2+</sup>-ATPase, H<sup>+</sup>-ATPase, correspondently, in rats under 1/10 and 1/100 DL<sub>50</sub> toxification.

**Key words:** polyoxipropilenglykole, xenobiotics, carbohydrate and energy metabolism.

Поступила 01.07.15