



Ю.К. Резуненко

## ВПЛИВ ПОЛІОЛІВ НА ОСНОВІ ГЛІЦЕРОЛУ НА ВМІСТ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ

Харківський національний медичний університет

**Ключові слова:** поліолі, плазма крові, циклічний аденозинмонофосфат, циклічний гуанозинмонофосфат.

**Ключевые слова:** полиолы, плазма крови, циклический аденозинмонофосфат, циклический гуанозинмонофосфат.

**Key words:** polyols, blood plasma, cyclic AMP, cyclic GMP.

За допомогою радіоімунологічного методу визначено вміст циклічних нуклеотидів у плазмі крові щурів за умов тривалого впливу промислових хімічних забруднювачів довкілля – поліолів – у дозі  $1/100 LD_{50}$ , що є необхідним для розкриття механізмів їхньої біологічної дії. Поліолі на основі гліцеролу (П-1103К, П-3003-2-60) на 15 добу підвищують вміст цАМФ і цГМФ в середньому на 24% і 40% відповідно, що свідчить про активацію адаптивних реакцій організму у відповідь на несприятливий вплив речовин. На 30 добу поліолі збільшують вміст цГМФ в середньому на 102% на фоні зниження вмісту цАМФ на 17%, що можна розглядати як одну з причин дисгомеостатичного характеру впливу речовин на організм щурів. Отримані результати необхідні для гігієнічного нормування поліолів і складання прогнозу їх несприятливого впливу на здоров'я населення.

Радиоиммунологическим методом определено содержание циклических нуклеотидов в плазме крови крыс в условиях длительного воздействия промышленных химических загрязнителей окружающей среды – полиолов – в дозе  $1/100 LD_{50}$ , что является необходимым для раскрытия механизмов их биологического действия. Полиолы на основе глицерола (П-1103К, П-3003-2-60) на 15 сутки повышают содержание цАМФ и цГМФ в среднем на 24% и 40% соответственно, что свидетельствует об активации адаптивных реакций организма в ответ на неблагоприятное влияние веществ. На 30 сутки полиолы повышают содержание цГМФ в среднем на 102% на фоне снижения цАМФ на 17%, что можно рассматривать как одну из причин дисгомеостатического характера воздействия веществ на организм крыс. Полученные результаты необходимы для гигиенического нормирования полиолов и составления прогноза их неблагоприятного влияния на здоровье населения.

Using radioimmunologic method the present research established the content of cyclic nucleotides in rat's blood plasma at conditions of prolonged (chronic) influence of environmental chemical pollutants e.g. polyols in  $1/100 LD_{50}$ . The work results are an important contribution in establishment of the substances biological action mechanism. Polyols which are structurally based on glycerol (P-1103K; P-3003-2-60) on the 15<sup>th</sup> day increase the content of cyclic AMP and cyclic GMP by 24% and 40% respectively. The induction of indexes signifies activation of rat's organism adaptive reactions as a response to the substances negative influence. Polyols on the 15 day increase the content of cyclic GMP by 102% on the background of decreasing the content of cyclic AMP by 17%. This may be considered as one of the reasons dishomeostatic substances effects on the rat's organism. The obtained results may be very useful in hygienic norming the polyols environmental limits threshold concentrations and elaboration of prognosis of the substances negative action on the population health.

Роботу виконано у рамках науково-дослідної роботи Харківського національного медичного університету «Вивчення механізмів біологічної дії простих полієфірів, у зв'язку з проблемою охорони навколишнього середовища» (номер держреєстрації 0110U001812).

Проблема охорони здоров'я населення та об'єктів довкілля від забруднення і негативного впливу шкідливих хімічних речовин на сучасному етапі набула глобального світового значення й особливої актуальності для України у зв'язку з погіршенням загальної екологічної ситуації [1,3,5,8]. Поліолі на основі гліцеролу (П-1103К, П-3003-2-60) належать до поширених промислових хімічних забруднювачів водоймищ, у тому числі джерел водопостачання населення, що пов'язано з широким використанням цих речовин у промисловості та побуті у якості миючих засобів, емульгаторів, антикорозійних і бактерицидних препаратів тощо [9]. Доведено можливість надходження речовин даного класу в організм людини з питною водою. Регламентація вмісту поліолів в об'єктах навколишнього середовища здійснюється на базі використання тимчасових розрахункових нормативів. Проте механізми біологічної дії

цих сполук вивчено недостатньо, зокрема їх урахування є підставою для адекватної регламентації та обґрунтування медико-біологічних і профілактичних заходів щодо захисту здоров'я населення та довкілля.

Важливою регуляторною ланкою клітинного метаболізму є циклазна система [10]. Участь циклічного 3',5'-аденозинмонофосфату (цАМФ) і циклічного 3',5'-гуанозинмонофосфату (цГМФ) у функціонуванні систем регуляції зумовлює інтерес до визначення їх вмісту й метаболізму за умов дії різних токсичних сполук [11]. Враховуючи виявлену попередніми дослідженнями негативну дію поліолів на фосфоліпідний склад мембран, рецепторні мембранозв'язані комплекси, а також стан окисидантно-антиоксидантної рівноваги зі зміщенням її у бік оксидантів, варто очікувати зміни в стані внутрішньоклітинних регуляторів і систем їх активації.

### МЕТА РОБОТИ

Визначення у плазмі крові щурів вмісту та співвідношення циклічних нуклеотидів за умов тривалого впливу поліолів на основі гліцеролу (П-1103К, П-3003-2-60) у дозі  $1/100 LD_{50}$ .



## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Використано зразки речовин з регламентованими фізико-хімічними характеристиками: поліоксипропілентріол – П-1103К і поліоксietiленоксипропілентріол – П-3003-2-60. Експерименти здійснено на 30 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г. Процедури з експериментальними тваринами здійснено згідно до вимог Державного комітету з етики. Тварин утримували у стаціонарних умовах віварію Харківського національного медичного університету за постійної температури та природного освітлення у пластикових клітках на збалансованому харчовому раціоні [7]. Їх піддавали пероральній затравці за допомогою зонда водними розчинами речовин щоденно одноразово протягом 30 діб у дозі 1/100 LD<sub>50</sub>, що відповідно складало для П-1103К – 0,012 г/кг, П-3003-2-60 – 0,032 г/кг маси тварини (LD<sub>50</sub> для П-1103К – 1,2 г/кг, LD<sub>50</sub> для П-3003-2-60 – 3,2 г/кг). Тваринам контрольної групи вводили відповідні об'єми води. Дослідження циклічних нуклеотидів проводили через 30 діб після початку експерименту, а також на 15 добу у крові, яку відбирали з під'язикової вени. У кожену групу віднесено 10 тварин. Забій тварин проводили шляхом декапітації, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію. Кров тварин об'ємом 4–5 мл, стабілізовану цитратом натрію у співвідношенні 1:9, центрифугували 15 хв при 1200 об/хв та відбирали плазму. Визначення вмісту цАМФ і цГМФ у плазмі крові об'ємом 1 мл проводили радіоімунологічним методом з використанням відповідних стандартних наборів реактивів «Cyclic AMP assay kit» та «Cyclic GMP RIA kit» фірми «Amersham» (Великобританія). Проби радіометрували на лічильнику гама-імпульсів «Бета-2». Математичну обробку результатів вимірювань проводили за допомогою калібрувальної кривої.

Статистичний аналіз цифрового матеріалу здійснювали за допомогою комп'ютерного пакета для обробки й аналізу статистичної інформації Statistica 6.0 (Statsoft, USA) [2]. Розподіл досліджуваних показників відповідав закону нормального (гаусівського) розподілу, тому визначали середнє арифметичне варіаційного ряду (M) і середню помилку середнього арифметичного (m). Для порівняння нормальних незалежних вибірок застосовували t-критерій Стьюдента. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У плазмі крові щурів на 15 добу дії поліолів у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> спостерігали достовірно значуще підвищення концентрації цАМФ (p=0,0025) і цГМФ (p=0,014) порівняно з контролем. Для поліолу 1103-К це відповідно складало 22% і 47%, для поліолу 3003-2-60 – 26% і 32%. На 30 добу впливу досліджуваних речовин виявлено протилежну динаміку: статистично значуще зниження рівня цАМФ (p=0,0032) – в середньому на 17% й суттєве підвищення рівня цГМФ (p=0,002) – на 102% (табл. 1).

При оцінці динаміки вмісту циклічних нуклеотидів доречно виявляти переважання будь-якого з них, оскільки процес трансдукції сигналу в клітину здійснюється за

Вплив поліолів у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> на вміст циклічних нуклеотидів у плазмі крові щурів (нмоль/л, M±m, n=10)

Поліол	цАМФ		цГМФ	
	доба спостереження			
	15	30	15	30
1103-К	134,7±9,2*	92,3±5,9*	14,3±1,23*	17,8±1,25*
3003-2-60	138,9±10,5*	95,9±6,2*	12,8±1,07*	19,3±1,64*
Контроль	110,6±7,4	112,2±8,7	9,7±0,67	9,2±0,73

Примітка: \* – p<0,05 відносно до контролю.

рахунок різних систем: цАМФ або цГМФ-залежних. Для оцінки балансу вторинних посередників використовували індекс співвідношення вмісту цАМФ до цГМФ.

На 15 добу спостереження індекс співвідношення цАМФ/цГМФ у щурів, яким вводили поліоли, дорівнював в середньому 10,21±0,86 ум. од., що майже наближувалось до значень контролю – 11,62±0,73 ум. од. Це підтверджує незначну рівноцінну активацію регуляторних механізмів у цей термін впливу. На 30 добу відзначено різке зниження індексу цАМФ/цГМФ за дії речовин, що складало в середньому 5,34±0,39 ум. од. і було в 2,2 рази нижче значень контрольної групи тварин.

Попередніми дослідженнями виявлено порушення структурно-функціонального стану клітинних мембран за умов впливу поліолів, що призвело до зниження енергетичного обміну й, у першу чергу, дефіциту макроергів внаслідок послаблення процесів окислювального фосфорилування. Такі зміни є вагомою причиною зниження рівня аденілових нуклеотидів, серед яких зменшення кількості АТФ є особливо несприятливим, оскільки за його участі через цАМФ відбувається процес фосфорилування білків, що перетворюють регуляторний сигнал і формують відповідь клітини на будь-який вплив. За умов окислявального стресу цей процес блокується надлишком продуктів вільнорадикальних процесів, порушується регуляція сигналів у зв'язку з деструкцією мембран, а зниження кількості аденілових нуклеотидів завершує цей цикл. Такі порушення, викликані дією поліолів, можуть поглиблюватись мобілізацією іонів кальцію з внутрішньоклітинного депо. Конкурентно витісняючи іони магнію, що є активаторами аденілатциклази (фермент, що каталізує синтез цАМФ), іони кальцію знижують її активність та активують кальцій-залежну фосфодіестеразу, що посилює гідроліз цАМФ [6]. Такими подіями можна пояснити зменшення концентрації цАМФ у плазмі крові щурів на 30 добу впливу поліолів. На 15 добу аденілатциклазна система та її компоненти, ймовірно, забезпечують адаптацію організму щурів за дії поліолів, що підтверджується збільшенням концентрації цАМФ.

Виявлене збільшення вмісту цГМФ у щурів, особливо на 30 добу спостереження, є стрес-індукованим за рахунок посилення перекисного окислення ліпідів і білків. Активована гуанілатциклаза призводить до утворення цГМФ, через який реалізуються численні фізіологічні й патологічні ефекти оксиду азоту. Тому підвищення активності гуанілатциклази, вмісту цГМФ також може



опосередковано свідчити про стимуляцію NO-залежних процесів при тривалому впливі поліолів.

Отримана динаміка змін вмісту циклічних нуклеотидів у плазмі крові щурів за умов впливу поліолів на основі гліцеролу добре узгоджується з даними наукової літератури щодо дії детергентів на ці показники [4]. Наявність гідрофобних і гідрофільних груп у молекулах поліолів П-1103К і П-3003-2-60 дає можливість розглядати їх як детергенти.

#### ВИСНОВКИ

1. На 15 добу дія поліолів на основі гліцеролу (П-1103К, П-3003-2-60) у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> супроводжується активацією аденілатциклазної та гуанілатциклазної месенджерних систем плазми крові щурів, що можна розглядати як адаптивну реакцію організму.

2. На 30 добу поліолів на основі гліцеролу (П-1103К, П-3003-2-60) у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> призводять до суттєвої активації гуанілатциклазної месенджерної системи на фоні пригнічення активності аденілатциклазної, що є однією з причин дисгомеостатичного характеру впливу речовин на організм експериментальних тварин.

3. Зміни внутрішньоклітинних процесів під впливом поліолів, з одного боку, можуть відбуватись у результаті їх мембранотропних ефектів в організмі, з іншого, за рахунок реалізації їх токсичної дії.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому планується здійснити комплекс досліджень, спрямованих на обґрунтування механізмів біологічної дії поліолів, зокрема оцінку активності процесів нейрогуморальної регуляції з метою визначення їх потенційної небезпеки та нормування.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белозерова С.М. Особенности формирования заболеваемости в условиях индустриального труда и новых технологий / С.М. Белозерова // Медицина труда и промышленная экология. – 2011. – №3. – С. 13–19.
2. Боровиков В.А. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере / В.А. Боровиков. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
3. Гнатейко О.З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О.З. Гнатейко, Н.С. Лук'яненко // Здоров'я ребенка. – 2007. – №6 (9). – С. 15–24.
4. Детергенты – модуляторы радиомиметических эффектов / Жуков В.И., Мясоедов В.В., Козин Ю.И. и др.]. – Белгород, 2000. – 374 с.
5. Коленчукова О.А. Особенности иммунометаболического статуса у лиц, подверженных воздействию техногенных факторов промышленного производства / О.А. Коленчукова, А.А. Савченко // Гигиена и санитария. – 2011. – №2. – С. 19–22.
6. Луцзяк В.И. Окислительный стресс и механизмы защиты от него / В.И. Луцзяк // Биохимия. – 2002. – Т. 66, Вып. 5. – С. 592–609.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А. та ін.]. – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.
8. Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону: міжвідмч. зб. наук. праць / [Відп. ред. С. В. Беспалова]. – Донецьк : ДонНУ, 2006. – Вип. – С. 106–112.
9. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов / [Жуков В.И., Попова Л.Д., Зайцева О.В. и др.]. – Х.: Торнадо, 2000. – 438 с.
10. Северин Е.С. Избирательная регуляция клеточного метаболизма / Северин Е.С. – М.: Наука, 1991. – 64 с.
11. Федоров Н.А. Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине / Федоров Н.А., Радуловацкий М.Г., Чехович Г.Е. – М.: Медицина, 1990. – 176 с.

#### Відомості про автора:

Резуненко Ю.К., к. мед. н., проректор з науково-педагогічної роботи ХНМУ.

#### Адреса для листування:

Резуненко Юрій Костянтинович. 61093, м. Харків, вул. Ільїнська, 67, кв. 224.

Тел.: (057) 705 07 01.

E-mail: lechmed@yandex.ua

Поступила в редакцію 26.01.2012 г.