

УДК 616.43:616.45:577.17]-092.9-099:547.426.1

© Ю.К. Резуненко, В.О. Прокопов, 2012.

## ВПЛИВ ПОЛІОЛІВ НА ОСНОВІ ГЛІЦЕРОЛУ НА СТАН СТРЕС-РЕАЛІЗУЮЧИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ

**Ю. К. Резуненко, В. О. Прокопов***Кафедра біологічної хімії (завідувач кафедри - проф. В.І. Жуков),  
Харківський національний медичний університет (м. Харків).*

### INFLUENCE OF POLYOLS STRUCTURALLY BASED ON GLYCEROL ON STATE OF STRESS-REALIZING SYSTEMS IN RAT ORGANISM

**Y. K. Resunenko, V. O. Prokopov**

#### SUMMARY

The present work investigated state of hypophyseal-cortico-adrenal and sympathy-adrenal system in rat blood plasma, brain and liver at conditions of prolonged action of industrial chemical pollutants e.g. polyols. The research is a part for establishing biological action mechanism of the compounds. Polyols structurally based on glycerol (P-1103K, P-3003) in 1/10 and 1/100 LD<sub>50</sub> on the 30<sup>th</sup> day of the compound peroral action increase the activity of stress-realizing systems. It's confirmed by increasing of content corticotropin, cortisol, adrenaline, noradrenaline and dopamine. The displayed impairments must be considered when elaborating the prognosis of unfavorable influence of the substances on the population health.

### ВПЛИВ ПОЛІОЛІВ НА ОСНОВІ ГЛІЦЕРОЛУ НА СТАН СТРЕС-РЕАЛІЗУЮЧИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ

**Ю. К. Резуненко, В. О. Прокопов**

#### РЕЗЮМЕ

У роботі вивчено стан гіпофізарно-кортикоадренової та симпатoadренової систем сироватки крові, головного мозку та печінки щурів за умов тривалого впливу промислових хімічних забруднювачів довкілля - поліолів, що є необхідним для розкриття механізмів їх біологічної дії. Поліоли на основі гліцеролу (П-1103К, П-3003-2-60) у дозах 1/10 і 1/100 LD<sub>50</sub> на 30-ту добу перорального впливу підвищують активність стрес-реалізуючих систем, що підтверджується збільшенням вмісту кортикотропіну, кортизолу, адреналіну, норадреналіну та дофаміну. Виявлені зміни необхідно враховувати при складанні прогнозу несприятливого впливу на здоров'я населення.

**Ключевые слова: полиолы, крысы, адреналин, норадреналин, дофамин, кортикотропин, кортизол.**

Бурхливий розвиток хімічної промисловості призвів до надзвичайно швидких темпів зростання антропогенних навантажень на природу, забруднення довкілля шкідливими промисловими викидами, негативного впливу на стан здоров'я людини [1, 3, 7]. Інтенсифікація виробництва поліолів, зокрема на основі гліцеролу, зумовила майже повсюдне забруднення ними поверхневих і підземних вод, якість яких постійно погіршується внаслідок господарської діяльності. Ці сполуки характеризуються не тільки великим об'ємом синтезу, а також широким використанням у різних галузях народного господарства та побуті [8]. У зв'язку з цим актуальним є проведення глибоких і всебічних досліджень з метою розробки медичних заходів у системі «навколишнє середовище – здоров'я населення». Крім того, для цих речовин відсутня комплексна токсиколого-гігієнічна характеристика, не визначений прогноз біологічної активності та віддалених наслідків впливу на організм. Попередніми дослідженнями виявлена активація вільнорадикальних процесів, зокрема перекисного окислення ліпідів, окислювальної модифікації білків та NO-залежних реакцій у біологічних мембранах та рідинах організму щурів за умов тривалого впливу

поліолів на фоні пригнічення антиоксидантної системи. Ці зміни можна розглядати як загальну метаболічну ланку оксидативного стресу та ініціюючу причину мобілізації відповідних реакцій організму. Відомо, що основні шляхи, через які опосереднюється стрес-реакція, забезпечує гіпоталамо-гіпофізарно-кортикоадренова система, що реалізує свої ефекти через глюкокортикоїдні, мінералокортикоїдні, андрогенні гормони, та симпатoadренова система з її гуморальними продуктами-катехоламінами (норадреналіном, адреналіном, дофаміном).

Метою даного дослідження було вивчення тривалого впливу поліолів на основі гліцеролу (П-1103К, П-3003-2-60) у дозах 1/10 і 1/100 LD<sub>50</sub> на стан стрес-реалізуючих систем в сироватці крові, головному мозку та печінці щурів шляхом визначення вмісту кортикотропіну, кортизолу, адреналіну, норадреналіну та дофаміну.

Робота виконана 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).

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У роботі використано зразки речовин з регламентованими фізико-хімічними характеристиками: поліоксипропілентриол – П-1103К і поліоксипропілентриол – П-3003-2-60. Експерименти проведені на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою (200-220) г. Проведення процедур з експериментальними тваринами здійснено згідно з вимогами Державного комітету з етики. Тварини утримувалися у стаціонарних умовах виварію за постійної температури та природного освітлення [6]. Їх піддавали пероральній затравці за допомогою зонда водними розчинами речовин щоденно одноразово протягом 30 діб у дозах 1/10 і 1/100 LD<sub>50</sub>, що відповідно складало для П-1103К – 0,12 і 0,012 г/кг, П-3003-2-60 – 0,32 і 0,032 г/кг маси. Тваринам контрольної групи вводили відповідні об'єми води. Дослідження показників здійснювали через 30 діб після початку експерименту. У кожній групі було по 10 тварин. Забій тварин проводили шляхом декапітації, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію. Вміст адреналіну, норадреналіну, дофаміну в гомогенатах головного мозку та печінки щурів визначали за методом Endo, Ogura [10]. Після декапітації у тварин швидко препарували головний мозок і печінку. Тканину зважували, роздільнювали й розтирали у 0,4 н НСЮ<sub>4</sub> у співвідношенні 1:10, потім центрифугували протягом 5 хв при 3000 г при 0°C. Надосадову рідину переносили у пробірки і доводили до рН 5-6 за допомогою 2н КОН на холоді. Удруге центрифугували протягом 5 хв при 3000 г і температурі 0°C. Розділення амінів проводили на колонці з карбоксиметилцелюлозою (КМЦ) типу СМ-52 фірми Whatman Biochemical (Англія). КМЦ-колонку (0,6х10 см) врівноважували 0,01 М фосфатним буфером (рН 6,2) та наносили нейтралізований тканинний екстракт у кількості 1-4 мл. Елюцію проводили 15 мл 0,03 М фосфатного буфера (рН 6,2). Визначення здійснювали на спектрофлюориметрі MPF-4А

фірми «Хітачі» (Японія) [11]. Довжина хвилі збудження для адреналіну дорівнювала 445 нм, довжина хвилі люмінесценції – 490 нм, для норадреналіну – 395/485 нм, дофаміну – 330/375 нм відповідно. Визначення адреналіну та норадреналіну в сироватці крові проводили після їх виділення хроматографічним методом Atack et al. [9]. Вміст кортизолу, кортикотропіну в сироватці крові визначали за допомогою діагностичних тест-систем «Стероид ИФА-кортизол-01» (Росія), «ACTH ELISA» (США) імуоферментним методом. Статистичний аналіз цифрового матеріалу здійснювали за допомогою комп'ютерного пакета для обробки й аналізу статистичної інформації Statistica 6.0 [2]. Для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t-критерій Стьюдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант. Визначали середнє арифметичне варіаційного ряду (M) та його середню помилку (m). Відмінності між двома вибірками вважали достовірними, якщо імовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 (p<0,05).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Тривалий вплив поліолу 1103К у дозах 1/10 і 1/100 LD<sub>50</sub> на організм щурів супроводжувався суттєвим підвищенням вмісту в сироватці крові кортикотропіну відповідно на 154% і 37%, а також гормону кори наднирників - кортизолу – на 82% і 42%, порівняно з контрольними тваринами. Така ж динаміка змін вмісту гормонів була характерна й для поліолу 3003-2-60: збільшення кортикотропіну на 57% і 35%, кортизолу – на 96% і 31% (табл. 1). Гіперпродукція глюкокортикоїдних гормонів викликає посилення глюконеогенезу, забезпечуючи тим самим легко доступне джерело енергії для реакцій адаптації, й одночасно викликаючи прискорену утилізацію амінокислот. Наслідком останнього є, як правило, пригнічення синтезу білка.

Таблиця 1

**Вплив поліолів на вміст кортикотропіну та кортизолу в сироватці крові щурів (30-а доба, нмоль/л, M±m; n=10)**

Поліол	Доза, LD <sub>50</sub>	Кортикотропін	Кортизол
1103К	1/10	982,7±79,4*	507,4±36,2*
	1/100	806,3±55,6*	395,3±27,5*
3003-2-60	1/10	927,9±68,0*	547,4±39,7*
	1/100	793,6±47,2*	367,4±22,1*
Контроль		588,2±31,6	279,4±19,5

Примітка: \* - p<0,05 відносно контролю

У сироватці крові щурів на 30-ту добу впливу речовин відмічалось достовірне збільшення вмісту

адреналіну та норадреналіну, причому найбільш виразне у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> – відповідно на 76% і 139% для

поліолу 1103К, 89% і 115% для поліолу 3003-2-60, порівняно з контролем. Для дози 1/10 LD<sub>50</sub> вміст адреналіну підвищувався лише на 33% і 50% відповідно для поліолів 1103К і 3003-2-60, а норадреналіну – на 32% і 62% (табл. 2).

Високі значення вмісту адреналіну та норадреналіну за дії дози 1/100 LD<sub>50</sub> свідчать про мобілізацію механізмів адаптації та резистентності організму при

інтенсивному стресовому впливі поліолів. Виникаюча реакція наднирникових залоз на надходження речовин з гіперпродукцією катехоламінів спрямована на підвищення компенсаторно-захисних сил організму та життєво важливих органів. Деяке зниження вмісту адреналіну та норадреналіну в сироватці крові щурів за умов впливу дози 1/10 LD<sub>50</sub> свідчить про зменшення резервів в адаптаційній системі організму.

Таблиця 2

**Вплив поліолів на вміст адреналіну та норадреналіну в сироватці крові щурів (30-а доба, нмоль/л, M±m, n=10)**

Поліол	Доза, LD <sub>50</sub>	Адреналін	Норадреналін
1103К	1/10	7,14±0,63*	3,22±0,31*
	1/100	9,45±0,54*	5,68±0,31*
3003-2-60	1/10	8,05±0,58*	3,85±0,29*
	1/100	10,12±0,62*	5,12±0,45*
Контроль		5,36±0,32	2,38±0,14

Примітка: \* - p<0,05 відносно контролю

У головному мозку експериментальних тварин, порівняно з контролем, спостерігали збільшення вмісту дофаміну за дії поліолів в 1/100 LD<sub>50</sub> в середньому на 65% та норадреналіну – на 56% на фоні незмінного вмісту адреналіну (табл. 3).

Отримані результати свідчать про можливу стимуляцію поліолами процесів синтезу катехоламінів у головному мозку щурів, а також про переважання інтен-

сивності норадреналінзалежних регуляторних впливів. Відомо, що стрес будь-якої природи викликає підвищення синтезу норадреналіну (а саме, в гіпоталамусі, мігдаліні, паравентрикулярному ядрі) і симпатичних нервах [5]. З іншого боку, підвищення дофаміну сприяє адаптації організму до стресових ситуацій та стимулюванню б- і в-адренорецепторів з вивільненням норадреналіну з гранулярних пресинаптичних депо [4].

Таблиця 3

**Вплив поліолів у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> на вміст дофаміну, норадреналіну, адреналіну в головному мозку та печінці щурів (30-а доба, нмоль/г тканини, M±m, n=6)**

Поліол	Головний мозок			Печінка		
	дофамін	норадреналін	адреналін	дофамін	норадреналін	адреналін
1103К	15,7±1,25*	10,8±0,97*	0,69±0,037	33,5±2,44	2,75±0,21*	2,13±0,11
3003-2-60	18,2±1,63*	9,4±0,82*	0,61±0,030	39,6±3,18	3,04±0,27*	2,08±0,09
Контроль	10,3±0,84	6,5±0,43	0,64±0,028	37,1±2,64	1,95±0,15	1,94±0,12

Примітка: \* - p<0,05 відносно контролю

У печінці щурів виявлено достовірне значуще збільшення лише рівня норадреналіну на 41% і 56% відповідно для поліолів 1103К і 3003-2-60, порівняно з контрольною групою. При цьому вміст дофаміну та адреналіну практично не змінювався (табл. 3). Зазначений характер змін може свідчити про стимуляцію перетворення попередників на норадреналін за умов підгострого впливу досліджуваних речовин.

#### ВИСНОВКИ

1. У розвитку адаптації організму експериментальних тварин до дії поліолів спостерігається актива-

ція стрес-реалізуючих систем – симпато-адреналової та гіпоталамо-гіпофізарно-кортикоадреналової, що підтверджується збільшенням вмісту кортикотропіну, кортизолу, адреналіну, норадреналіну та дофаміну в сироватці крові, головному мозку та печінці.

2. Найбільша виразність змін у випадку дози 1/100 LD<sub>50</sub> пояснюється формуванням стану організму, направлено на збереження стабільних параметрів гомеостазу. Доза 1/10 LD<sub>50</sub>, навпаки, формує напружений адаптивний стан з початковими ознаками виснаження захисно-компенсаторних механізмів.

3. Посилення синтезу катехоламінів за дії поліолів є проявом оксидативного токсичного стресу як обов'язкового компонента відповідної реакції організму на дію хімічних агентів, а також превалювання катаболічних процесів над анаболічними.

*Перспективи подальших досліджень.* У подальшому планується провести комплекс досліджень, спрямованих на всебічне обґрунтування механізмів біологічної дії поліолів з метою визначення їх потенційної небезпеки та нормування.

#### ЛІТЕРАТУРА

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 // Здоровье ребенка. - 2007. - № 6 (9). - С. 15-24.
4. Козлов А.Г. Адренергическая регуляция молекулярных механизмов / Козлов А.Г. - К.: Техніка, 1993. - 160 с.
5. Кулинский В.И. Катехоламины: биохимия, фармакология, физиология, клиника / В.И. Кулинский, Л.С.

Колесниченко // Вопросы мед. химии. - 2002. - Т. 48, Вып. 1. - С. 45-67.

6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. - К.: Авіценна, 2002. - 156 с.

7. Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону : міжвідмч. зб. наук. праць / [Відп. ред. С.В. Беспалова]. - Донецьк: ДонНУ, 2006. - Вип. - С. 106-112.

8. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов / [Попова Л.Д., Зайцева О.В., Кратенко Р.И. и др.]; под ред. В.И. Жукова. - Х.: Торнадо, 2000. - 437 с.

9. Atack C. A procedure for the isolation of noradrenaline (together with adrenaline), dopamine, 5-hydroxytryptamine and histamine from the same tissue sample using a single column of strongly acidic cation exchange resin / C. Atack, T. Magnusson // Acta pharmacol. et toxicol. - 1978. - Vol. 42. - P. 35-57.

10. Endo J. Separation of biogenic amines in rat brain on a phosphorylated cellulose column / J. Endo, J. Ogura // Europ. J. Pharmacol. - 1973. - № 21. - P. 293-298.

11. Schlupt M. A fluorimetric micromethod for the simultaneous determination of serotonin, noradrenalin and dopamine in milligram amounts of brain tissue / M. Schlupt, W. Liichtensteiger, H. Langemann // Biochem. Pharmacol. - 1998. - Vol. 23. - P. 2437-2446.