

EFFECT OF EXOGENOUS NITROGEN OXIDES ON BALANCE OF FREE RADICAL PROCESSES IN THE MICE

Makovetska L.I., Ganzha O.B., Glavin O.A., Druzhyna M.O., Pashkevich Y.I., Mikhailenko V.M.

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННИХ ОКСИДІВ АЗОТУ НА БАЛАНС ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ



**МАКОВЕЦЬКА Л.І.,
ГАНЖА О.Б., ГЛАВІН О.А.,
ДРУЖИНА М.О.,
ПАШКЕВИЧ Я.І.,
МИХАЙЛЕНКО В.М.**

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, м. Київ

УДК 661.98:577.334:636.028

Ключові слова: оксиди азоту, вільнорадикальні процеси, супероксидний аніон-радикал, каталазна активність, ксантиноксидоредуктаза, прооксидантно-антиоксидантне співвідношення.

Оксиди азоту (ОА) належать до десяти основних забруднювачів атмосферного повітря, що негативно впливають на стан довкілля та на здоров'я людини. Постановою Кабінету Міністрів України від 29.11.2001 р. № 1598 затверджено "Перелік найбільш поширених і небезпечних забруднюючих речовин, викиди яких в атмосферне повітря підлягають регулюванню". Згідно з цим переліком найбільш поширеними забруднювачами є оксиди азоту, бенз(а)пірен, діоксид та інші сполуки сірки, оксид вуглецю, озон, речовини у вигляді суспендованих твердих частинок (мікрочастинки та волокна), свинець та його сполуки, формальдегід.

У процесах горіння переважно виділяється NO, який в атмосфері окиснюється до ОА. Діоксид азоту, за результатами дослідження, у рамках проекту Міжнародного банку реконструкції та розвитку для України віднесено до пріоритетних забруднювачів атмосферного повітря [1]. Системна дія ОА пов'язана з ініціацією в організмі вільнорадикальних реакцій, нітрозуванням біологічних макро-

молекул, а також утворенням канцерогенних нітросполук *in vivo*. Монооксид азоту легко реагує з іншими вільними радикалами, що призводить або до їх детоксикації або до генерування інших надзвичайно токсичних форм [2]. Вільнорадикальні продукти ОА і діоксид азоту мають властивість пошкоджувати білки і ненасичені жирні кислоти, порушувати цілісність клітинних і субклітинних мембранних структур, інгібувати транспорт електронів дихальним ланцюгом мітохондрій, знижувати рівень АТФ у крові та у клітинах тканин ссавців, окиснювати гемоглобін крові і брати участь в утворенні R- і T-конформерів комплексу NO-гемоглобін. Крім того, цим сполукам притаманна мутагенна і тератогенна активність.

Luanpitpong і співавт. [3] відзначають, що NO за тривалої дії відносно низьких (мікромольних) концентрацій виступає зазвичай у ролі промотора пухлинного росту (проліферація пухлинних клітин, розвиток пухлинного ангиогенезу, деградація екстрацелюлярного матриксу). Водночас за дії у високих (мілімолярних)

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ОКСИДОВ АЗОТА НА БАЛАНС СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ

Маковецкая Л.И., Ганжа Е.Б., Главин А.А., Дружина Н.А., Пашкевич Я.И., Михайленко В.М.

Целью работы было исследование влияния длительного ингаляционного воздействия экзогенных ОА на нарушение свободнорадикальных и метаболических процессов в организме, которые могут приводить к малигнизации тканей.

Материалы и методы. Исследования проводили на мышах-самцах линии С57В1/6 весом 20-25 г в возрасте 6 недель. Животные опытной группы подвергались ингаляционному воздействию NO в течение 10 дней по 14 часов в сутки в камере объемом 0,1 м³ при концентрации ОА 50 мг/м³ воздуха в пересчете на NO. Оценку свободнорадикального гомеостаза проводили по показателям уровня генерации супероксидного анион-радикала, содержанию восстановленного глутатиона, светосуммы хемилюминесценции, активности ксантиноксидоредуктазы и каталазы.

Результаты. Показано, что длительное ингаляционное поступление экзогенных оксидов

азота сопровождалось ростом скорости наработки супероксидного анион-радикала гепатоцитами, снижением резервов восстановленного глутатиона, активацией ксантиноксидоредуктазы в печени и снижением каталазной активности в крови мышей линии С57В1/6. Зарегистрирована общая тенденция к росту светосуммы хемилюминесценции, что свидетельствует о преобладании прооксидантных процессов в системе крови. Таким образом, длительное воздействие экзогенных оксидов азота стимулировало развитие в организме мышей оксидативного стресса, который характеризовался интенсификацией генерации супероксидного анион-радикала, ингибированием каталазного звена антиоксидантной системы и смещением про-антиоксидантного равновесия в сторону прооксидантных процессов, которые могут приводить к повреждению ДНК и развитию генетической нестабильности в организме.

Ключевые слова: оксиды азота, свободнорадикальные процессы, супероксидный анион-радикал, каталазная активность, ксантиноксидоредуктаза, прооксидантно-антиоксидантное соотношение.

© **Маковецька Л.І., Ганжа О.Б., Главін О.А., Дружина М.О., Пашкевич Я.І., Михайленко В.М. СТАТТЯ, 2015.**

концентраціях NO проявляється в якості інгібітора пухлинного росту (наприклад, за рахунок індукції апоптозу).

У наших попередніх дослідженнях показано взаємозв'язок між розвитком нітрозативного стресу і ростом пухлини. Тривала дія екзогенного ОА негативно впливає на Т-ланку імунної системи, викликаючи гіперактивацію макрофагів, що супроводжується більш інтенсивним ростом пухлини [4].

При дослідженні пухлин різного гістогенезу відзначено різноспрямований характер зв'язку між активністю NO-синтази, вмістом у тканинах NO і розвитком пухлинного процесу. Передусім це пов'язане з різними біохімічними характеристиками тканин та впливом NO на різноманітні ланки життєдіяльності нормальних та пухлинних клітин і тканин. ОА та NO-вмісні комплекси, утворені у процесі метаболізму, належать до факторів з потенційною прямою (алкілювання та деамінування молекули ДНК) та опосередкованою (утворення пероксинітриду та активація вільнорадикальних реакцій, інгібіція ферментів репарації) генотоксичною дією.

Функції та роль ендogenous NO в організмі багатогранні і активно досліджуються. Однак роль екзогенного NO у балансі вільнорадикальних процесів за його надходження до організму інгалаційним шляхом вивчено недостатньо.

Метою роботи було дослідження впливу тривалої дії екзогенних ОА на порушення вільнорадикальних та метаболічних процесів в організмі (формування нітрозативно-оксидативного стресу), що можуть призводити до малігнізації тканин.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на мишах-самцях лінії С57В1/6 вагою 20-25 г віком 6 тижнів розведення віварію ІЕПОР НАНУ. Тварин було розподілено на дослідну та контрольну групи. У період адаптації (тиждень) та під час експерименту тварини перебували у віварії за температури 18-22°C, вологості 50-60%, природного світлового режиму "день — ніч" у стандартних пластикових клітках з вільним доступом до їжі та води. Процедури з експериментальними тваринами здійснювали згідно з "Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках".

Тварини дослідної групи зазнавали інгалаційного впливу NO



ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

протягом 10 днів по 14 год на добу у камері об'ємом 0,1 м³ за концентрації ОА 50 мг/м³ повітря у перерахунку на NO. Дану концентрацію обрано з урахуванням результатів попередніх досліджень як таку, що посилює ріст та метастазування перещепленої карциноми легені Льюїс. На виході з камери частка NO становила 20-40%, а NO₂ — 60-80% від їх загального вмісту. Подачу повітря здійснювали зі швидкістю, що забезпечувала у камері 5-разовий газообіг на годину. Синтез, очистку NO та метод визначення на виході з камери описано у [4]. Кожні 24 години після початку експерименту для дослідження використовували по 8 мишей. Мишей декапітували, використовуючи для наркозу дієтиловий ефір. Підбір тварин та формування груп проводили методом "випадкових чисел".

Вміст відновленого глутатіону (GSH) у гомогенаті клітин печінки визначали у реакції з 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБК). Концентрацію білка вимірювали за методом Greenberg.

Сумарну активність ксантиноксидоредуктази (КсОР) та активність ксантиндегідрогеназної (КсД;КФ 1.1.1.204) і ксантиноксидазної (КсО; КФ 1.1.3.22) ізoформ ферменту у постмітохондріальній фракції печінки визначали загальноприйнятим методом у модифікації для планшетного рідера Sinergy (США) з використанням оксонової кислоти для інгібування уреаз. Вимірювання проводили за довжини хвилі 295 нм у спеціальних 96-лункових планшетах з пропусканням в УФ-діапазоні. Інкубаційне середовище містило 50 мкл постмітохондріальної фракції печінки (2500 мг білка/л); 250 мкл Na-фосфатного буфера (рН 7,8) з 0,5 мМ ксантиномом, 1,6 мМ оксонової кислоти та 0,5 мМ НАД. Динаміку зміни активності ферменту визначали протягом 30 хв за 26°C з інтервалом 2 хв. Результати виражали у

нМ сечової кислоти на 1,0 мг білка на годину (нМ/мг/год).

Прооксидантно-антиоксидантне співвідношення у крові досліджували методом індукованої пероксидом водню хемілюмінесценції (ХЛ) на хемілюмінометрі ХЛМ1Ц-01 з ФЕП-130 у термостатованій кюветі за t = 25°C. ХЛ реакцію ініціювали введенням 0,5 мл 3% розчину H₂O₂ (фізіологічного ініціатора хемілюмінесценції) до 1 мл гемолізату. Інтенсивність ХЛ гемолізату визначали за світлосумою реакції (за 5 хв), що свідчить про прооксидантно-антиоксидантне співвідношення хімічних продуктів у досліджуваній пробі.

Рівень генерації супероксидного аніон-радикала (O₂⁻) визначали у суспензії клітин печінки, виділених загальноприйнятим методом, за допомогою ХЛ методу, що базується на використанні індикатора люцигеніну [5].

Дослідження стану систем антиоксидантного захисту у тварин визначали за рівнем каталазної активності периферичної крові загальноприйнятим методом Королюк М.А.

Результати досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати та обговорення.

Активність вільнорадикальних процесів в організмі мишей за тривалої дії екзогенних ОА оцінювали за рівнем реактивних форм кисню (РФК), зокрема O₂⁻, у гепатоцитах. Інтенсивність ХЛ характеризує швидкість окисного метаболізму у клітинах, оскільки кисень використовується переважно для напрацювання АТФ у дихальному ланцюгу мітохондрій. На першому етапі цього процесу внаслідок приєднання одного електрона до O₂ відбувається утворення супероксидних аніон-радикалів, частина яких дифундує поза межі дихального ланцюга, ініціюючи вільнорадикальні реакції. Ця частка ра-

EFFECT OF EXOGENOUS NITROGEN OXIDES ON BALANCE OF FREE RADICAL PROCESSES IN THE MICE

Makovetska L.I., Ganzha O.B., Glavin O.A., Druzhyna M.O., Pashkevich Y.I., Mikhailenko V.M.

The aim of the study was to investigate the effect of prolonged inhalation exposure of exogenous NO on violation of free radicals and metabolic processes in an organism, which can lead to cancer.

Materials and methods. The study has been carried out on male C57Bl/6 mice, 6 weeks old, weighing 20-25 g. The experimental animals were exposed to NO in inhalation chamber during 10 days for 14 hours per day with NO concentration of 50 mg/m³ of air.

Free radical homeostasis assessed by the level of superoxide anion radical generation, the content of reduced glutathione, the chemiluminescence light sum, enzymatic activity of xanthine oxidoreductase and catalase.

Results. It was shown that long-term inhalation

of exogenous nitrogen oxides was accompanied by an increased rate of superoxide anion-radical generation in hepatocytes, decreased level of reduced glutathione, stimulation of xanthine oxidoreductase activity in the liver and decreased catalase activity in the blood of C57Bl/6 mice. Overall upward trend of chemiluminescence was registered that indicates the predominance of prooxidant processes in prooxidant-antioxidant balance in the blood. Thus, prolonged exposure of exogenous nitrogen oxides stimulated the oxidative stress development in mice, which was characterized by the intensification of the superoxide anion-radical generation, inhibition of catalase activity of antioxidant system and the shift of pro- antioxidant balance toward prooxidant processes that can lead to DNA damage and the development of genetic instability in cells.

Keywords: nitrogen oxides, free radical processes, superoxide anion-radical, catalase activity, xanthine oxidoreductase, prooxidant-antioxidant ratio.

Рисунок 1
Рівень генерації супероксидного аніон-радикала гепатоцитами мишей лінії C57Bl/6 за тривалої інгаляційної дії ОА

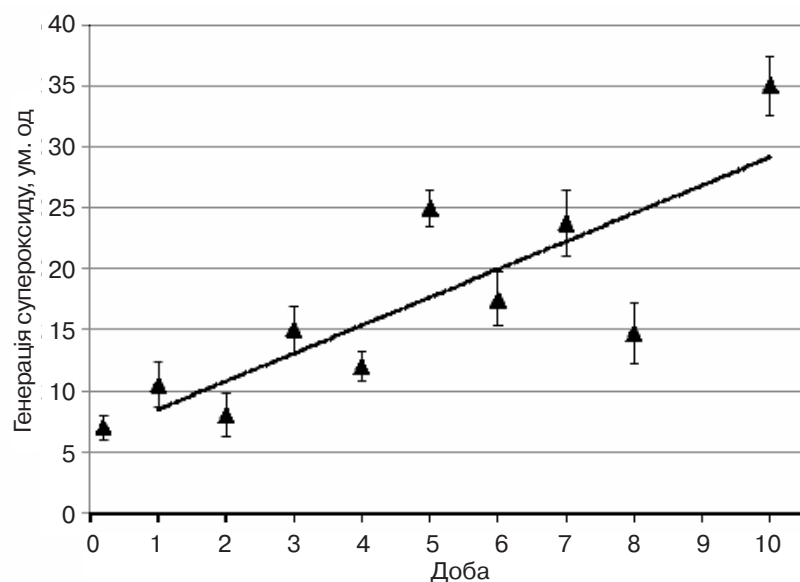
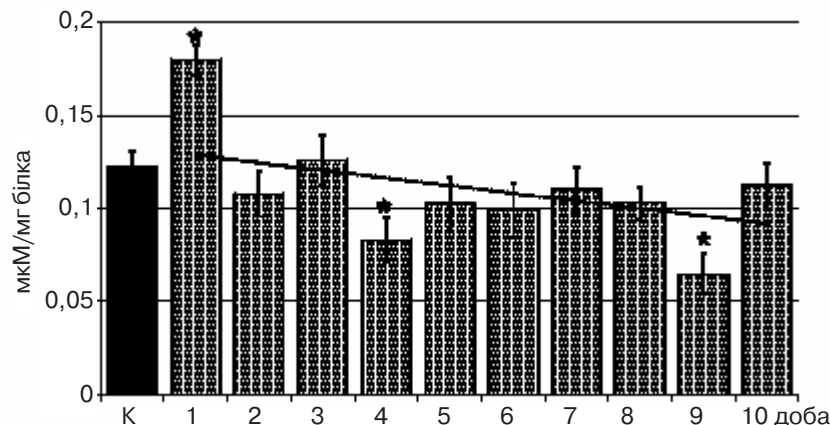


Рисунок 2
Вміст GSH у печінці мишей лінії C57Bl/6 за тривалої інгаляційної дії ОА



Примітки: ■ — інтактний контроль (К); ▨ — вплив ОА;
-- — лінійна апроксимація з 1 по 10 добу; * — $p \leq 0,05$ до групи К.

дикальних продуктів залежить від інтенсивності та ефективності узгодженої роботи ферментів дихального ланцюга.

За дотримання стандартних умов (t^0 , рН, концентрація індикатора, кількість клітин у зразку тощо) інтенсивність хемілюмінесценції на початку реакції відображає швидкість напруження O_2^- з урахуванням його ферментативної та неферментативної елімінації.

Інгаляційна дія екзогенних ОА супроводжувалася неухильним зростанням концентрації супероксиду у гепатоцитах мишей (рис. 1). Так, його вміст на 10-ту добу експерименту у 5 разів перевищував контрольні значення.

Значні відмінності у рівнях супероксидного аніон-радикала на 8 і 10 добу свідчать про дестабілізацію у цей період функціонування окисно-відновних процесів у клітинах печінки, що вказує на недостатність ферментативних і неферментативних антиоксидантних систем у нейтралізації надлишку супероксиду. Отже, інгаляційне надходження ОА до організму є більш серйозним шкідливим чинником, ніж надлишок супероксиду, що утворюється за фізіологічних умов.

Сам по собі факт значного зростання рівня АФК у клітинах печінки за тривалої дії екзогенних ОА не є фатальним, оскільки у клітині наявні системи антиоксидантного захисту. Однак тривале збільшення рівня вільних радикалів в організмі тварин за дії ОА свідчить про порушення балансу про- та антиоксидантних процесів. Значну роль у детоксикації ксенобіотиків, зокре-

ма нейтралізації РФК та реактивних форм азоту (РФА), відіграє система глутатіону. Завдяки наявності γ -глутамільного зв'язку та реактивної сульфгідрильної групи глутатіон бере участь у численних реакціях метаболізму, забезпечуючи нормальний перебіг низки фізіологічних і біохімічних процесів. Участь глутатіону і пов'язаних з ним систем у процесах біотрансформації та детоксикації ксенобіотиків можна розглядати як один з елементів загального механізму, що визначає стійкість організму до токсичної дії ксенобіотиків. Найнадійнішим критерієм стану системи детоксикації можна вважати рівень відновленого глутатіону (GSH).

Інгаляційне надходження ОА стимулює (в 1,4 рази порівняно з контролем; $p \leq 0,05$) накопичення у клітинах печінки мишей відновленого глутатіону протягом першої доби (рис. 2), що можна розглядати як захисну реакцію, що стримує розвиток вільнорадикальних реакцій. Однак тривала інгаляційна дія ОА призводить до стійкого зниження резервів GSH протягом усього періоду спостереження.

Зниження рівня GSH може бути пов'язане з утворенням GSSG або GSNO, що у реакціях трансітрозуювання є проміжним етапом переносу NO на інші тіоли і білки. Динаміка утворення продуктів реакції з GSH залежить від концентрацій NO та активності супероксиддисмутази (СОД) [6].

При вивченні наслідків надходження до організму підвищених доз ОА значний інтерес являє ключовий фермент термінальної стадії катаболізму пуринів КсОР. КсОР належить до групи молібденових гідроксилаз і може каталізувати власне КсО реакцію (гіпоксантин/ксантин + $O_2 + H_2O =$ сечова кислота + $H_2O_2 + O_2^-$) та КсД реакцію (гіпоксантин/ксантин + НАД + = сечова кислота + НАДН). Фермент відіграє важливу роль у балансі вільнорадикальних процесів в організмі та бере участь у багатьох ланках кругообігу ОА та їхніх похідних, зокрема у перетворенні неорганічних нітратів на нітрити, нітритів — на NO, органічних нітратів — на неорганічні нітрити, органічних нітритів — на NO. За звичайних умов більшу частку КсОР складає КсД ізоформа, що продукує потужний антиоксидант — сечову кислоту. КсО використовує для переносу електронів вільний кисень і продукує значну частину

присутніх у тканинах супероксидних радикалів. Підвищення їхньої продукції у результаті активації оксидазної ізоформи ферменту може призводити до інтенсифікації процесів ПОЛ [7]. У реакції O_2^- і NO. може утворюватися така активна сполука, як пероксинітрит (ONOOH), з яким пов'язують цитотоксичну дію NO. Він має більшу реакційну здатність, ніж NO або супероксидний радикал, індукує процеси ПОЛ і є сильним нітрозуючим агентом. Активація КсО у присутності NO радикалів може призводити до підвищеного синтезу пероксинітриту [8].

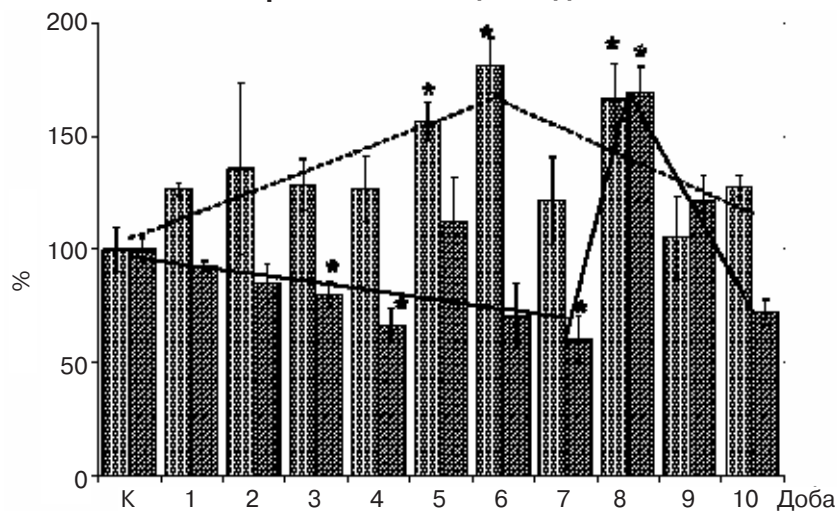
Тривала фракціонована інгаляційна дія ОА супроводжувалась активацією КсОР у печінці мишей (рис. 3). Максимальне збільшення її активності (в 1,8 рази; $p \leq 0,05$) спостерігалось на

6-ту добу впливу ОА, також достовірно підвищення відзначене і на 5-ту та 8-му добу проведення експерименту.

Інгаляційна дія ОА призводить до надходження до організму додаткових кількостей РФА. Тому значний інтерес являють зміни в активності КсД та КсО ізоформ КсОР. Було показано, що до 7-ї доби інгаляційного впливу ОА частка КсО знижувалась (достовірні відмінності від контрольних тварин на 3, 4 та 7-му добу; $p \leq 0,05$) з 25% до 14%. Але на 8-му добу активність цієї ізоформи ферменту зростала у 2,8 рази, частка її, навпаки, достовірно збільшувалась до 43% ($p \leq 0,05$), після чого протягом 9-ї та 10-ї доби дії ОА знову знижувалась до 18% (рис. 3).

Таким чином, зміни активності КсОР більшою мірою були ком-

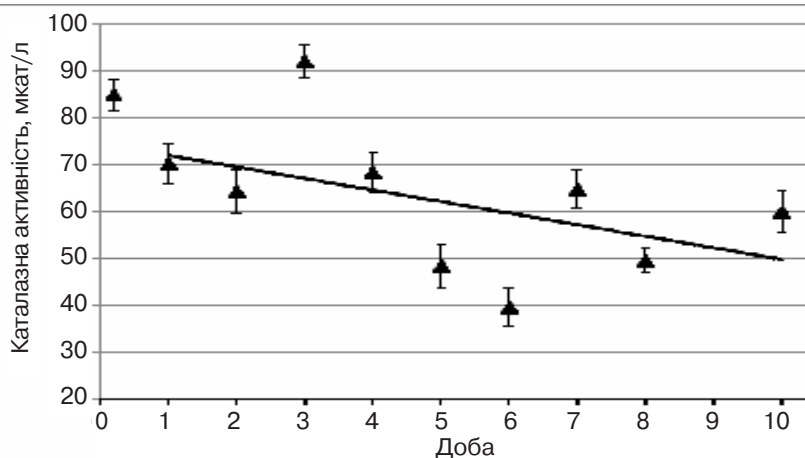
Рисунок 3
Активність ферменту КсОР у печінці мишей лінії С57В1/6 за тривалої інгаляційної дії ОА



Примітки: ■ КсОР; ▨ — частка КсО ізоформи; — — — лінійна апроксимація змін загальної активності КсОР; — — — лінійна апроксимація змін частки КсО ізоформи; (100% - інтактний контроль, К); * — $p \leq 0,05$ до групи К.

Рисунок 4

Каталазна активність периферичної крові мишей лінії С57В1/6 за тривалої інгаляційної дії ОА



пенсаторними і спрямованими на зменшення навантаження ОА. На фоні загальної активації ферменту, що бере участь у перетворенні різних сполук азоту, зменшення частки КсО ізоформи мало знизити вільнорадикальне навантаження на тканини. Водночас активація КсО ізоформи і збільшення її частки та зниження вмісту GSH у печінці на 8-9-ту добу дії ОА свідчить про виснаження адаптивної відповіді організму тварин.

Ферменти антиоксидантного захисту є найвагомішим засобом утримання вільнорадикальних процесів у тканинах організму у межах фізіологічної норми. У проведеному дослідженні вивчали зміни каталазної активності крові. Результати дослідження (рис. 4) свідчать про поступове її зниження (до 38%) протягом усього часу перебування тварин в умовах підвищеного вмісту ОА в атмосферному повітрі. Зниження каталазної активності може відбуватися внаслідок інактивації ферменту при нітрузуванні NO його активного центру. Не виключено можливість, що за умов тривалої дії екзогенних ОА частина супероксидного аніонрадикала не дисмутувала до пероксиду водню, а за реакцією $O_2^- + NO = ONOO^-$ перетворювалася на пероксинітрил, у такий спосіб зменшуючи навантаження на каталазу.

У умовах даного експерименту фізіологічний шлях інактивації РФК ($O_2^- > H_2O_2 > H_2O$) за участі СОД і каталази модулюється ОА. Однак інтенсифікація окисного метаболізму активним радикальним продуктом $ONOO^-$ призводить до утворення пероксидів, залучаючи до їх інактивації пероксидазу та каталазу. Така нестабільність перебігу реакцій

окисного метаболізму, пов'язана з інгаляційним надходженням екзогенних ОА, знаходить своє відображення у періодичних збуреннях активності каталази — індуцибельного ферменту антиоксидантного захисту.

Загальний рівень інтенсивності вільнорадикальних процесів окиснення у тканинах організму та ефективність його гальмування ферментативними та неферментативними антиоксидантними системами відображає прооксидантно-антиоксидантне співвідношення, що є досить лабільним інтегральним показником. Порушення цього співвідношення у бік надлишку вільних радикалів є одним з провідних механізмів формування структурно-функціональних ушкоджень. Інгаляційна дія ОА на початкових етапах (1, 2 доба) викликає незначне ($p \leq 0,1$) зниження світлосуми світіння гемолізатів на 14,4% (рис. 5), що пов'язане, ймовірно, з мобілізацією захисно-компенсаторних механізмів організму, у т.ч. антиоксидантної системи.

У подальшому спостерігали загальну тенденцію ($p \leq 0,1$) до зростання світлосуми світіння, що свідчить про переважання прооксидантної ланки про-антиоксидантного співвідношення у системі крові.

При порівнянні швидкості напруження супероксиду гепатоцитами мишей у процесі інгаляційного надходження екзогенних ОА з інтенсивністю вільнорадикальних змін у крові можна зробити висновок, що в основі поступової стимуляції пероксидних процесів є генерація супероксиду, яка супроводжується зниженням каталазної активності крові.

Інтенсифікація окисних процесів за участі радикальних реакцій індукує ефективну мобілізацію енергетичних ресурсів. Механізм посилення реакцій вільнорадикального окиснення (досить лабільний і швидкодіючий) лежить в основі перебудов енергетичного обміну на рівні організму і клітин за дії стресу. І лише за умов, коли продукція РФК перевищує потенційні можливості антиоксидантної системи, проявляються негативні аспекти активації вільнорадикального окиснення, розвивається стан оксидативного стресу.

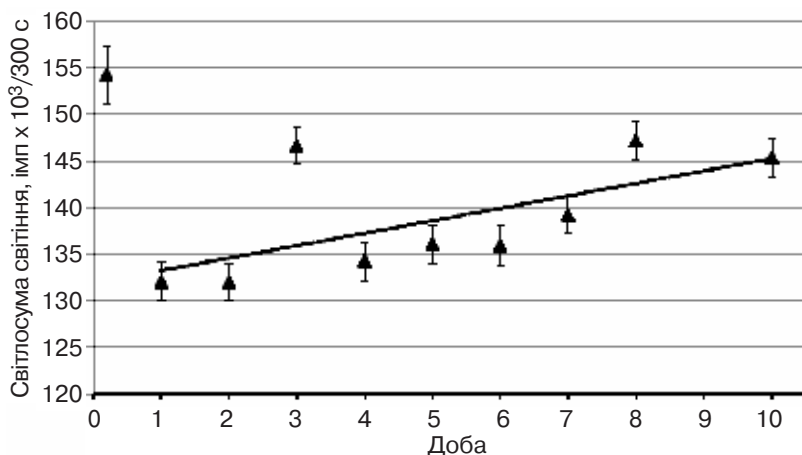
Тривале надходження екзогенних ОА до організму підвищує ймовірність їхньої реакції з супероксидом з утворенням досить сильного окисника — пероксинітрилу, при цьому СОД не може запобігти цьому процесу, оскільки швидкість реакції СОД з супероксидом втричі нижча, ніж в ОА. Пероксинітрил, у свою чергу, взаємодіючи з іншими вільними радикалами, ініціює реакції пероксидного окислення ліпідів, білків, нуклеїнових кислот і хімічного розщеплення ДНК. Оскільки дія пероксинітрилу пов'язана з пошкодженням тирозину, це призводить до деструкції багатьох ферментативних і структурних систем, а також до блокування сигнальних каскадів у клітинах. Тобто за інгаляційної дії ОА ініціюється пероксинітрильний вільнорадикальний шлях окиснення. Однак в організмі немає спеціалізованих ферментативних систем для знешкодження чи перехвату пероксинітрилу, тому спостерігається нітрозативний стрес.

Таким чином, тривала дія екзогенних ОА стимулювала розвиток в організмі мишей оксидативного стресу, що характеризувався інтенсифікацією генерації супероксидного аніонрадикала, інгібуванням каталазної ланки антиоксидантної системи та зсувом про-антиоксидантної рівноваги у бік прооксидантних процесів, що можуть призводити до пошкодження ДНК та розвитку генетичної нестабільності в організмі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Розвиток екологічної політики та системи управління охороною довкілля України. Грант Фонду інституційного розвитку Світового банку 28281 UA. 1999.
2. Bonavida B. Nitric Oxide (NO) and Cancer. Prognosis, Prevention and Therapy / B. Bonavida. — New York : Springer, 2010. — 513 p.

Рисунок 5
Світлосума світіння гемолізатів мишей лінії C57Bl/6 за тривалої інгаляційної дії ОА



3. Nitrosothiol Signaling in Anoikis Resistance and Cancer Metastasis / S. Luanpitpong, A.K. Iyer, N. Azad et al. // For Immunopathol Dis Therap. — 2012. — Vol. 3, № 2. — P. 141-154.

4. Effect of environmental nitric oxides on the antitumor resistance of rats / V.M. Mikhailenko, Z.D. Savtsova, O.A. Glavin et al. // Exp Oncol. — 2005.

5. Liochev S.I. Lucigenin (Bis-N-methylacridinium) as a Mediator of Superoxide Anion Production / S.I. Liochev, I. Fridovich // Archives of Biochemistry and Biophysics. — 1997. — Vol. 337, № 1. — P. 115-120.

6. Kolesnik B. Efficient nitrosation of glutathione by nitric oxide / B. Kolesnik, K. Palten, A. Schrammel et al. // Free Radic. Biol. Med. — 2013. — Vol. 63. — P. 51-64.

7. The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury / M. Hosnuter, A. Gurel, O. Babuccu et al. // Burns. — 2004. — Vol. 30. — P. 121-125.

8. A new route to peroxynitrite: a role for xanthine oxidoreductase / B.L.J. Godbeer, J.J. Doel, J. Durgan et al. // FEBS Lett. — 2000. — Vol. 475. — P. 93-96.

REFERENCES

1. The Development of Environmental Policy and Management System of Environmental Protection in Ukraine. Foundation Grant of Institution Development World Bank 28 281 UA. Kyiv, 1999. (in Ukrainian)

2. Bonavida B. Nitric Oxide (NO) and Cancer. Prognosis, Prevention and Therapy. New York : Springer ; 2010 : 513 p.

3. Luanpitpong S., Iyer A.K., Azad N., Wang L, Rojanasakul Y. For Immunopathol Dis Therap. 2012 ; 3 (2) : 141-154.

4. Mikhailenko V.M., Savtsova Z.D., Glavin O.A., Mikhailenko P.M., Voyaikova I.M., Evstratyeva L.N., Perepnyhatka N.P. Exp. Oncol. 2005; 27: 65-70.

5. Liochev S.I., Fridovich I. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1997 ; 337 (1) : 115-120.

6. Kolesnik B., Palten K., Schrammel A., Stessel H., Schmidt K., Mayer B., Gorren A.C. Free Radic Biol Med. 2013 ; 63 : 51-64.

7. Hosnuter M., Gurel A., Babuccu O., Armutcu F., Kargi E., Isikdemir A. Burns. 2004 ; 30 : 121-125.

8. Godbeer B.L.J., Doel J.J., Durgan J., Eisenthal R., Harrison R. FEBS Lett. 2000 ; 475 : 93-96.

Надійшла до редакції 15.11.2014

EXPERIMENTAL STUDY OF METHYL TERTIARY-BUTYL ETHER EFFECT ON THE EMBRYOGENESIS IN WHITE RATS

Yavorovsky O.P., Paustovsky Yu.O., Anisimova I.G., Zaprivoda L.P.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ МЕТИЛТРЕТБУТИЛОВОГО ЕФІРУ НА ЕМБРІОНАЛЬНИЙ РОЗВИТОК БІЛИХ ЩУРІВ

М

етилтретбутиловий ефір (МТБЕ) — речовина, що широко використовується як антидетонаційна добавка до бензину у переважній більшості європейських країн, зокрема в Україні, США та інших країнах. Кількість МТБЕ у марках високооктанового бензину в Україні може сягати 10-15%. Значне збільшення виробництва МТБЕ призвело до забруднення різних об'єктів довкілля (атмосферного повітря, повітря робочої зони, води вододім, ґрунту тощо) цією речовиною у багатьох країнах світу.

МТБЕ — безбарвна прозора рідина з характерним вираженим запахом. Для МТБЕ встановлено низку параметрів токсичності: середньосмертельна доза у разі введення у шлунок щурам стано-

**ЯВОРОВСЬКИЙ О.П.,
ПАУСТОВСЬКИЙ Ю.О.,
АНІСІМОВА І.Г.,
ЗАПРИВОДА Л.П.**

Національний медичний
університет
ім. О.О. Богомольця, м. Київ
УДК
613.6:615.9:547.27:618.33-007

Ключові слова:
**метилтретбутиловий ефір,
ембриолетальний,
тератогенний, ретардаційний
ефекти, білі щури.**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ МЕТИЛТРЕТБУТИЛОВОГО ЭФИРА НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ БЕЛЫХ КРЫС

Яворовский О.П., Паустовский Ю.А., Анисимова И.Г., Запривода Л.П.

Цель исследования. Экспериментальное изучение влияния на эмбриогенез метилтретбутилового эфира (МТБЭ) как важный аспект решения проблемы сохранения здоровья населения в условиях накопления этого вещества в атмосферном воздухе, почве, источниках водоснабжения (подземных и поверхностных), в других средах.

Методы исследования. В эксперименте изучены эмбриолетальный, тератогенный, ретардационный эффекты влияния МТБЭ в дозах 500, 50, 5 и 0,5 мг/кг при внутрижелудочном поступлении с 1 по 19 день беременности. Возможное повреждающее действие на эмбриогенез этого вещества оценивали по способности повышать уровень эмбриональной смертности (эмбриолетальный эффект) и приводит к порокам развития внутренних органов и костной системы (тератогенный эффект). Ретардационное действие МТБЭ определяли по показателям общего развития плодов: масса тела, краниокаудальный размер, масса и размер плаценты и оксификация костей скелета.

Результаты. Действие МТБЭ в диапазоне изучаемых доз приводило к увеличению общей, доимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов (эмбриолетальный эффект), не индуцировало фенотипических аномалий развития, однако характеризовалось другими проявлениями тератогенного эффекта (дефекты развития внутренних органов и костной системы). Висцеральные нарушения проявлялись только при максимальном уровне воздействия наличием внутренних гематом. Скелетные аномалии развития присутствовали у плодов белых крыс трех групп с большими дозами МТБЭ (500, 50 и 5 мг/кг). МТБЭ в дозах 500 и 50 мг/кг характеризуется также проявлениями ретардационного эффекта, поскольку нарушает состояние окостенения скелета плодов и замедляет темпы его оксификации (грудины, крестцовых позвонков, плюсны). Указанные изменения, как правило, подчинялись прямой зависимости "доза — эффект". Полученные результаты послужат научным обоснованием для разработки профилактических мероприятий, направленных на предупреждение вредного воздействия МТБЭ на организм.

Ключевые слова: метилтретбутиловый эфир, эмбриолетальный, тератогенный, ретардационный эффекты, белые крысы.

© Яворовський О.П., Паустовський Ю.О., Анісімова І.Г., Запривода Л.П. СТАТТЯ, 2015.