

ВЛИЯНИЕ IRGASTAB PVC76 НА ДЕТОКСИЦИРУЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ПЕЧЕНИ

Фомин М.В.

*ГОУВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им.
И.И.Мечникова Росздрава», Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47,8(812) 543-94-10,
alikbaeva@mail.ru*

Резюме: В статье представлены материалы токсикологических исследований нового компонента производства поливинилхлорида, антиоксиданта IRGASTAB PVC76, на детоксицирующую функцию печени. Показано, что исследуемое вещество угнетает активность ферментов эндоплазматического ретикула гепатоцитов, что может привести к нарушению детоксицирующей функции печени.

Ключевые слова: ферменты эндоплазматического ретикула гепатоцитов.

INFLUENCE IRGASTAB PVC76 ON DETOXICATION LIVER FUNCTION

Fomin M.V.

*State Educational Organization of Higher Professional Education «Saint-Petersburg
State Medical Academy after I.I. Mechnikov of the Federal Agency for Public Health and Social
Development of the Russian Federation»*

Summary: The article presents the materials of toxicological studies of a new component of the production of polyvinylchloride, an antioxidant IRGASTAB PVC76, on the detoxifying function of the liver. Shown that the test substance inhibits the activity of enzymes of the endoplasmic reticulum of hepatocytes, which could lead to a breach of the detoxifying liver function.

Keywords : enzymes, the endoplasmic reticulum of hepatocytes

Введение

Знание механизмов повреждающего действия нового химического вещества и его метаболизма необходимо для разработки методов эффективной профилактики острых и хронических отравлений, терапии интоксикаций, прогнозирования характера взаимодействия с другими химическими веществами или лекарственными препаратами. Известно, что детоксикация ксенобиотиков обеспечивается окислением чужеродных веществ в организме и образованием нетоксичных конъюгатов, с последующим

выведением их из организма. Важную роль в механизме окисления при действии химического фактора играет монооксигеназная система эндоплазматического ретикулула. Установлено, что большинство ксенобиотиков метаболизируются НАДФН-зависимой редокс-системой, в которой конечным активатором кислорода является цитохром Р-450. Функции этой системы связаны не только с окислением ксенобиотиков и трансформацией эндогенных субстратов (стероидные гормоны, жирные кислоты, алкилпурины, тироксин и т.д.), а также с образованием мукополисахаридов, биосинтезом холестерина, конъюгацией желчных пигментов и других важнейших для организма биохимических реакций. Поэтому исследование функционального состояния ферментов микросомальных монооксигеназ (МОГ) эндоплазматического ретикулула гепатоцитов при различной интенсивности воздействия химических веществ имеет принципиальное значение, как одного из основных звеньев в системе окислительно-восстановительных реакций, обеспечивающих адаптационные механизмы организма.

Целью исследования являлось изучение возможных путей превращения нового компонента производства поливинилхлорида, IRGASTAB PVC 76, ферментами микросомальных монооксигеназ.

Материалы и методы

Объектом изучения выбран новый компонент производства поливинилхлорида - антиоксидант, используемый как стабилизатор пластмассовых материалов, IRGASTAB PVC 76. Химическое название вещества по IUPAC: октадецил-3-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропаноат. Синонимы: октадециловый эфир-3-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропионовой кислоты; алкофен БП 18; ирганокс 1076. Молекулярная масса: 530,87. Удельная масса: 1,08 г/см³ (при 20⁰С). рН = 5,4. Агрегатное состояние IRGASTAB PVC 76: дисперсия от белого до грязно-белого цвета без запаха. IRGASTAB PVC 76 термостабилен до температуры 280⁰С и нелетуч. Не растворим в воде, плохо растворяется в растительном масле, но растворяется в бензоле, гексане, ацетоне.

Для решения поставленной цели провели несколько серий экспериментов. В первой серии экспериментов изучали возможные пути метаболизма IRGASTAB PVC 76 с помощью индуктора и ингибитора микросомальных монооксигеназ [1].

Типичным индуктором микросомальных МОГ является фенобарбитал. К веществам, уменьшающим скорость метаболизма ксенобиотиков (ингибиторам) относятся четыреххлористый углерод, окись углерода, хлорид кобальта и др. В наших экспериментах, в качестве ингибитора микросомальных МОГ использовали четыреххлористый углерод [2].

Эксперименты проводили на половозрелых крысах-самцах массой 200-220 граммов. Первой группе (подопытная группа №1) животных в течение трех дней в брюшную полость вводили 80 мг/кг фенобарбитала. Через 24 часа после последней инъекции фенобарбитала животным вводили среднесмертельную дозу исследуемого вещества. Второй группе животных (подопытная группа №2) за 24 часа до введения среднесмертельной дозы, в брюшную полость вводили ингибитор микросомальных МОГ - четыреххлористый углерод (1000 мг/кг). Контролем служила третья группа животных, которая получала только среднесмертельную дозу IRGASTAB PVC 76.

Отравленные животные находились под наблюдением 14 дней, при этом регистрировалось количество погибших и выживших животных. По разнице гибели контрольных и подопытных животных на фоне индуктора и ингибитора микросомальных МОГ, судили об участии ферментных систем гепатоцитов в метаболизме исследуемого вещества и о степени токсичности образующихся метаболитов.

Во второй серии экспериментов изучали активность ферментов МОГ с помощью косвенных методов исследования. В настоящее время известен ряд методов, позволяющих оценить функциональное состояние ферментов редокс-цепей эндоплазматического ретикулаума прямыми и косвенными методами. Среди прямых методов оценки монооксигеназной активности наибольшее распространение нашел метод определения цитохрома P-450 по Т. Omura, R.Sato [3]. Однако этот методический прием связан с определенными трудностями получения биологического материала, поэтому в практике экспериментальных исследований нашли применение косвенные методы оценки ферментативной активности МОГ [4]. В нашей работе были выбраны такие косвенные методы оценки активности ферментов монооксигеназной системы как определение скорости окисления аминопирина и определение времени окисления тиопентала натрия (по длительности тиопенталового сна экспериментальных животных).

Определение времени окисления гексенала или тиопентала натрия по длительности сна экспериментальных животных является наиболее простым в исполнении и, вместе с

тем, достаточно информативным приемом. Чувствительность и информативность данного метода определяется двумя факторами: во-первых, гексенал или тиопентал натрия по отношению к цитохрому Р-450 рассматриваются как субстраты первого типа и, таким образом, время их окисления характеризует функциональное состояние цитохрома Р-450. Во-вторых, высокая чувствительность ЦНС к наличию в крови целой молекулы гексенала или тиопентала натрия и отсутствие таковой к их метаболитам, определяется только действием целой молекулы препарата.

Метод с нагрузкой аминопирином также является широко используемым методом определения активности цитохром Р-450-зависимых МОГ в экспериментальных исследованиях. Известно, что аминопирин относится к субстратам I типа по отношению к цитохрому Р-450, а скорость его превращения характеризует функциональную активность этого гемопротеида. Биотрансформация аминопирина приводит к образованию в организме двух основных метаболитов: 4-АПП и N-АцААП. Далее, 4-АПП как чужеродный амин подвергается реакции биологического ацетилирования через промежуточное соединение с коэнзимом А и образованием ацетилового конъюгата N-АцААП. Неотъемлемой частью метода с нагрузкой аминопирином, является метод определения 4-аминоантипирина и N-ацетил-4-аминоантипирина в моче экспериментальных животных [5].

Полученные экспериментальные данные подвергались статистической обработке с применением параметрической (критерий Стьюдента-Фишера) и непараметрической (метод Вилкоксона-Манна-Уитни) статистики.

Результаты исследования

Введение антиоксиданта IRGASTAB PVC 76 на фоне индукции фенobarбиталом и ингибирования микросомальных ферментов четыреххлористым углеродом практически не отразилось на токсичности IRGASTAB PVC 76. Полученные в данной серии результаты позволяют предположить, что IRGASTAB PVC 76 может ингибировать ферментную систему микросомальных МОГ и угнетать активность ферментов детоксикации.

Для выяснения влияния IRGASTAB PVC 76 на функциональное состояние ферментов МОГ, отвечающих за процессы детоксикации многих экзогенных и эндогенных субстратов была проведена вторая серия экспериментов.

Результаты второй серии экспериментов о влиянии исследуемых веществ IRGASTAB PVC 76 на активность цитохром Р-450-зависимых МОГ представлены в таблицах 1-2.

Таблица 1.

Изменение длительности тиопенталового сна крыс после трехдневного введения $1/3DL_{50}$ IRGASTAB PVC 76

№ п/п	Группы животных, длительность сна (минуты)	
	Контроль	IRGASTAB PVC 76
1	23	263
2	27	267
3	42	258
4	29	253
5	57	151
6	21	228
7	104	254
8	106	216
9	37	256
M	98	238.44
m	25.93	13.03
t	-	4.84
p	-	<0.001

Экспериментальным животным в течение трех дней вводили $1/3DL_{50}$ исследуемых веществ. На четвертые сутки контрольным и подопытным животным в брюшную полость вводили 40 мг/кг тиопентала натрия и регистрировали продолжительность сна (наркоза). Трехдневное введение $1/3DL_{50}$ IRGASTAB PVC 76 в брюшную полость настолько модифицировало активность ферментов детоксикации, что длительность тиопенталового сна экспериментальных животных значительно увеличивалась по сравнению с контрольными животными. Аналогичный результат был получен при проведении нагрузки с амидопирином. Исследуемое вещество IRGASTAB PVC 76 ($1/3DL_{50}$) вводили в брюшную полость экспериментальных животных в течение 3-х дней, на 4-день животным контрольной и подопытной групп вводили 20 мг/кг аминокиприна с последующим определением в моче основных метаболитов аминокиприна: 4-аминоантипирина и N-ацетил 4-аминоантипирина. Результаты выполненных экспериментов представлены на таблице 2.

Таблица 2.

Изменения выделения метаболита амидопирина - 4-аминоантипирина и N-ацетил 4-аминоантипирина после трехдневного введения 1/3 DL₅₀ IRGASTAB PVC 76

№ п/п	4-аминоантипирина, мкг/мл		N-ацетил 4-аминоантипирин, мкг/мл	
	Контрольная группа	Подопытная группа	Контрольная группа	Подопытная группа
1	165,73	52,30	3376,40	1336,60
2	164,80	184,72	2780,60	562,50
3	201,73	118,02	2979,20	372,20
4	201,73	47,34	2231,30	819,90
5	143,38	140,03	1294,60	1059,30
6	68,28	47,46	2096,50	676,50
7	188,28	46,35	1848,80	947,50
8	80,11	88,97	1942,00	2108,70
9	66,00	43,20	1699,20	1447,70
10	-	24,58	-	655,40
M	142.23	79.30	2249.8	998.60
m	15.25	16.42	233.9	178.0
t	-	2.8	-	4.25
p	-	0.01<p<0.02	-	<0.001

В наших исследованиях испытанные высокие дозы IRGASTAB PVC 76 (1/3DL₅₀) приводили к угнетению ферментной системы микросомальных МОГ, о чем свидетельствует достоверное увеличение времени тиопенталового сна и уменьшение выделения метаболитов амидопирина: 4-аминоантипирина и N-ацетил-4-аминоантипирина. Обращает на себя внимание достоверное уменьшение суточного диуреза (рис. 1.).

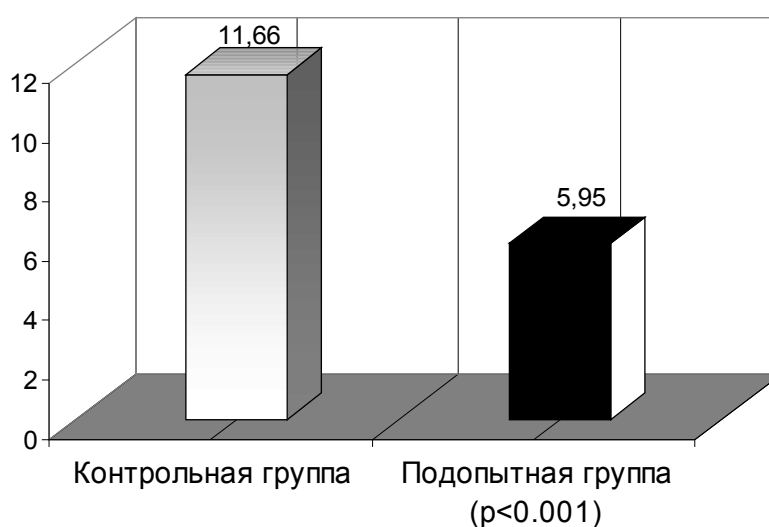


Рис. 1. Изменение диуреза после трехдневного введения $1/3DL_{50}$ IRGASTAB PVC 76 в брюшную полость белых крыс

Выводы

Суммируя результаты экспериментальных исследований по оценке активности ферментов монооксигеназной системы печени при введении в брюшную полость белых крыс высоких доз ($1/3DL_{50}$) исследуемого соединения (IRGASTAB PVC 76), можно сделать следующее заключение:

- IRGASTAB PVC 76 угнетает активность цитохром Р-450-зависимых МОГ, что может привести к нарушению детоксицирующей функции печени, а также к функциональным расстройствам других органов и систем, поскольку многие биологически активные вещества (гормоны, желчные кислоты, жирорастворимые витамины, холестерин и др.) метаболизируются ферментами МОГ.

Список литературы

1. Луковникова Л.В., Сидорин Г.И., Фролова А.Д. Ингибиторный анализ биологического окисления как методический прием ускоренного прогнозирования метаболизма и механизма токсического действия промышленных ядов // Актуальные вопросы общей и корабельной токсикологии. - СПб., 1994. С. 105.
2. Ляхович В.В., Цырлов И.Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. Новосибирск: Наука, 1985, 240 с.
3. Omura T., Sato R. The carbon monoxidebinding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its homoprotein nature. - "J. Biol. Chem.". 1964 7 p. 2370-2378.
4. Сидорин Г.И. К вопросу о биохимической адаптации при экстремальном и хроническом действии промышленных ядов.// Современные проблемы профилактической токсикологии / Московский НИИ гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана. – М., 1991. – С.4-25.
5. Попов Т.А., Леоненко О.Б. О возможности оценки активности микросомальных оксидаз смешанной функции печени в динамике. – В кн.: Математические модели в биологии и исследование физиологических систем. Киев, 1975, С.100-103.