

ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ ТКАНИННОЇ СИСТЕМИ В АСПЕКТІ МАТЕМАТИЧНОГО ЗАКОНУ СТАРІННЯ

Представлені дані про вікові зміни щільності клітин ендотелію рогівки, отримані за допомогою мультианалізуючого ендотеліального мікроскопа. Вивчено дані 286 рогівок від 196 трупних донорів у віці від 20 до 70 років з подальшим аналізом результатів у аспекті математичної моделі старіння.

Життєздатність рогівки — це її спроможність підтримувати прозорість, що пов'язано з чисельністю (щільністю) клітин ендотеліального моношару. Ця здатність знижується з віком одночасно зі зменшенням кількості клітин. Проте оскільки вікове зниження клітинної чисельності відбувається, як свідчать представлені в роботі дані, відповідно до формули експоненціального розпаду, можна стверджувати, що втрата (елімінація) клітин має вік-незалежний характер, тобто не зумовлений старінням клітин. Таким чином, старіння тканинної системи, яке демонструє ендотеліальний моношар, можна математично описати формулою експоненціального розпаду, що підтверджують спостереження за зміною чисельності ендотеліальних клітин, які мають вік-незалежний характер.

Ключові слова: старіння, ендотелій рогівки, розпад тканинної системи.

LIFETIME OF TISSUE IN ASPECT OF THE MATHEMATICAL LAW OF AGEING

The data about age changes of density of the endothelial cells of the cornea received by means of the multi-analyzing mirror microscope is presented. The data of 286 corneas from 196 corpse donors at the age from 20 till 70 years, with the subsequent analysis of results in aspect of a mathematical model of ageing, is studied.

Viability of a cornea is its ability to sustain a transparency that is connected with number (density) of cells of endothelial monolayer. This ability drops with age simultaneously with reduction of number of cells. But as during age the cellular number descends according to the formula of exponential disintegration, as the presented data testify, it is possible to assert that loss (elimination) of cells has age-independent character, i. e. is not caused by ageing of cells. Thus, ageing of histic system, which shows the endothelial monolayer, is possible to describe by the formula of exponential disintegration. Supervision of the age changes of the cellular number, having age-independent character, testify it.

Key words: ageing, endothelium of cornea, disintegration of tissue.

УДК 616.092.9В. В. Бабієнко, *д-р мед. наук, проф.*,

І. В. Сахарова,

В. Ю. Левковська, *канд. мед. наук*

ОЦІНКА БІОТРАНСФОРМАЦІЇ АМІНОМЕТИЛІЗОНОНІЛФЕНОЛУ ТА ЙОГО ОКСІЕТИЛЬОВАНИХ ПОХІДНИХ ПРИ ПІДГОСТРОМУ ПЕРОРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ ЩУРАМ

Одеський національний медичний університет

Для оцінки резервних можливостей та стійкості організму до несприятливого впливу хімічних факторів довкілля інформативним є вивчення у печінці активності мікросомального окиснення. Саме останньому належить провідна роль у біотрансформації чужорідних хімічних речовин в організмі [1; 2]. Сьогодні розповсюдженими забруднювачами водних об'єктів довкілля, у тому числі й джерел водопостачання населення, є хімічні речовини торговельної марки «Неонол», синтезовані конденсацією ізонілфенолу з

тетраметилпропілентріаміном (реакція Манніха), — амінометилізонілфенол (АМІНФ) та його оксіетильовані похідні з числом оксіетильованих груп 4 та 12 (АМІНФ_{4, 12}). За хімічною будовою та фізико-хімічними властивостями дані речовини, з одного боку, є фенольними основами Манніха, а з другого — іоногенними нітрогеновмісними поверхнево-активними речовинами. Для АМІНФ та його оксіетильованих похідних відсутня повна інформація щодо ступеня їх небезпеки щодо здоров'я людини. Головним у систе-

мі попереджувальних заходів, спрямованих на виключення шкідливих наслідків хімізації народного господарства, є дотримання допустимих рівнів впливу хімічних речовин. У реалізації останнього провідну роль відіграють комплексні токсиколого-гігієнічні дослідження, об'єднані у кілька етапів, одним з яких є виявлення особливостей токсичної дії на організм.

Метою даного дослідження було оцінити у підгострому експерименті вплив амінометилізонілфенолу та його оксіетильованих похідних з числом ок-

сіетильних груп 4, 12 дозою 1/100 LD₅₀ на показники мікросомального окиснення у печінці щурів: швидкість споживання кисню та окиснення NADPH, вміст цитохрому P₄₅₀, інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) — і визначити продукти їх біотрансформації у сечі тварин.

Матеріали та методи дослідження

У роботі використано хімічно чисті зразки АМІНФ та його похідних АМІНФ_{4, 12}. Для експериментів було відібрано статевозрілих щурів-самців популяції Wistar масою 200–220 г, яким перорально вводили речовини щодня однократно протягом 30 діб дозою 1/100 LD₅₀. Середньолетальні дози (LD₅₀) дорівнювали для АМІНФ — 0,52 г/кг; АМІНФ₄ — 1,04 г/кг, АМІНФ₁₂ — 1,16 г/кг маси. Інтактним щурам вводили відповідну кількість питної води. Динаміку змін показників оцінювали на 10, 20, 30-ту добу після введення речовин. У кожній групі було по 6 тварин. Ідентифікацію продуктів біотрансформації АМІНФ та його похідних у сечі тварин проводили методом розподільної хроматографії шляхом порівняння часу їх утримування з часом утримування стандартів на колонках з нерухомою фазою 20 % β-метокси-(β-ціанетокси)-діетиловим ефіром (твердий носій целіт-545) [3]. Добову сечу тварин збирали за допомогою спеціальної метаболічної камери.

Швидкість споживання кисню мікросомами гепатоцитів щурів оцінювали полярографічним методом, швидкість окиснення NADPH — спектрофлуориметричним методом (довжина хвилі збудження 366 нм, довжина хвилі флуоресценції — 420 нм) шляхом вимірювання рівня зниження флуоресценції у процесі окиснення, вміст цитохрому P₄₅₀ — спектрофотометричним методом шляхом визначення різниці поглинання між 450 і 490 нм за методични-

ми рекомендаціями В. М. Ореховича [4]. Мікросоми гепатоцитів виділяли за методом S. A. Komoth, K. A. Narayn [5].

Інтенсивність процесів неферментативного залізо-аскорбат-залежного та ферментативного NADPH-залежного ПОЛ у мікросомах гепатоцитів щурів оцінювали спектрофотометрично за реакцією між малоновим діальдегідом і тіобарбітуровою кислотою при додаванні прооксидантів, у якій утворюється забарвлений триметиновий комплекс з максимумом поглинання при 532 нм [6].

При статистичному опрацюванні одержаних результатів у вибірках з нормальним розподілом застосовували параметричні характеристики — середнє значення показника (M) та стандартну помилку (m). Порівняння вибірок між собою проводили за критерієм Стьюдента, приймаючи за критичний рівень значущості p<0,05.

Результати дослідження та їх обговорення

Хроматографічна оцінка біотрансформації АМІНФ та його оксіетильованих похідних в організмі щурів виявила на 30-ту добу токсифікації дозою 1/100 LD₅₀ присутність у сечі вуглеводнів (гексану, гептану), оцтового та пропіонового альдегідів, ацетону, етилацетату, метанолу, етанолу, ізопропанолу (табл. 1, 2).

Утворення такого роду продуктів є суттєвим чинником ініціації вільнорадикальних реакцій. Відновлення вільних радикалів до вуглеводнів супроводжується їх окисненням до альдегідів. У свою чергу, хімічно нестабільні альдегіди можуть розщеплюватися також з додатковим утворенням вільних радикалів, які є ініціаторами ПОЛ.

Досліджувані хімічні речовини дозою 1/100 LD₅₀ на 10, 20 та 30-ту добу підгострого ек-

Таблиця 1

Час утримання стандартів на колонці з нерухомою фазою 20 % β-метокси-(β-ціанетокси)-діетилового ефіру на целіті-545

Час утримання	Речовина	Час утримання	Речовина
49 с	Метан	12 хв 9 с	Пропіоновий альдегід
51 с	Етан	16 хв 27 с	Ацетон
56 с	Пропан	17 хв 37 с	Метанол
2 хв 25 с	Гексан	24 хв 56 с	Етилацетат
4 хв 35 с	Гептан	25 хв 14 с	Етанол
5 хв 42 с	Оцтовий альдегід	32 хв 29 с	Ізопропанол

Таблиця 2

Час утримання продуктів біотрансформації амінометилізононілфенолу та його оксіетильованих похідних на колонці з нерухомою фазою 20 % β-метокси-(β-ціанетокси)-діетилового ефіру на целіті-545

Продукт біотрансформації	АМІНФ	АМІНФ ₄	АМІНФ ₁₂	АМІНФ ₂₀
Гексан	2 хв 29 с	2 хв 21 с	2 хв 27 с	2 хв 24 с
Гептан	4 хв 32 с	4 хв 35 с	4 хв 38 с	4 хв 31 с
Оцтовий альдегід	5 хв 42 с	5 хв 38 с	5 хв 46 с	5 хв 40 с
Пропіоновий альдегід	12 хв 10 с	12 хв 8 с	12 хв 6 с	12 хв 9 с
Ацетон	16 хв 29 с	16 хв 24 с	16 хв 30 с	16 хв 25 с
Метанол	17 хв 32 с	17 хв 37 с	17 хв 39 с	17 хв 35 с
Етилацетат	24 хв 58 с	24 хв 55 с	24 хв 56 с	24 хв 59 с
Етанол	25 хв 18 с	25 хв 13 с	25 хв 19 с	25 хв 12 с
Ізопропанол	32 хв 25 с	32 хв 23 с	32 хв 26 с	32 хв 31 с

Вплив амінометилізононілфенолу та його оксіетильованих похідних дозою 1/100 LD₅₀ на активність споживання кисню мітросомами печінки щурів, n=6, M±m

Група щурів	Швидкість ендogenousного дихання, нМ кисню/(хв·мг)			Швидкість окиснення NADPH, нМ NADPH/хв·мг білка		
	10-та доба	20-та доба	30-та доба	10-та доба	20-та доба	30-та доба
АМІНФ	5,17±0,17 p<0,05	4,42±0,16 p<0,05	3,20±0,60 p<0,05	3,68±0,19 p>0,05	4,22±0,17 p<0,05	6,53±1,14 p<0,05
АМІНФ ₄	5,25±0,22 p<0,05	4,22±0,15 p<0,05	3,50±0,19 p<0,05	3,53±0,20 p>0,05	4,02±0,16 p<0,05	5,46±0,96 p<0,05
АМІНФ ₁₂	5,07±0,16 p<0,05	4,40±0,16 p<0,05	2,80±0,21 p<0,05	3,25±0,30 p>0,05	4,08±0,28 p>0,05	7,01±1,00 p<0,05
Контроль	1,40±0,37	1,45±0,34	1,54±0,42	3,23±0,28	3,24±0,22	3,32±0,35

Примітка. У табл. 3–5: p — рівень значущості щодо контролю.

перименту викликали у мітросомах гепатоцитів щурів при порівнянні з контролем підвищення (p<0,05) швидкості ендogenousного дихання. На 10-ту добу АМІНФ та його похідні АМІНФ_{4, 12} дозою 1/100 LD₅₀ не впливали (p>0,05) на швидкість окиснення NADPH у мітросомах гепатоцитів піддослідних тварин. На 20-ту, особливо на 30-ту добу, спостерігалось вірогідне (p<0,05) підвищення цього показника (табл. 3).

Швидкість ендogenousного дихання відбиває, як правило, загальну дихальну активність мітросом гепатоцитів, включаючи й процеси ПОЛ. Доведено, що при вільному окисненні NADPH деяка кількість використовується в утворенні пероксидів. Тому, за даними літератури [7], визначення споживання кисню у мітросомах гепатоцитів без інгібування процесів ПОЛ буде свідчити не тільки про швидкість окиснення NADPH, а також про швидкість утворення пероксидів.

На 10-ту добу затравлення щурів досліджуваними хімічними речовинами дозою 1/100 LD₅₀ не виникало щодо контролю змін вмісту цитохрому P₄₅₀ у мітросомах гепатоцитів. На 20-ту добу спостереження реєструвалось підвищення (p<0,05) його рівня лише у разі введення тваринам АМІНФ та АМІНФ₄. На 30-ту добу підвищення вмісту мітросомального цитохрому P₄₅₀

викликали всі речовини, особливо вираженим воно було при введенні АМІНФ та АМІНФ₄ (табл. 4).

У цілому отримані результати свідчать про посилення протягом підгострого експерименту процесів мітросомального окиснення у печінці щурів при пероральному введенні їм АМІНФ та його оксіетильованих похідних діючою дозою 1/100 LD₅₀. З одного боку, це свідчить про підвищення процесів біотрансформації чужорідних для організму речовин, а з другого — про активацію процесів ПОЛ. Доведено, що у мітросомальному окисненні утворюються активні форми кисню — ініціатори вільнорадикальних реакцій [8; 9]. Для підтвердження висунутого припущення у мітросомах гепатоцитів щурів, токсифі-

кованих АМІНФ та його оксіетильованими похідними, додатково оцінювалась активність неферментативного залізо-аскорбат-залежного та ферментативного NADPH-залежного ПОЛ (табл. 5).

Результати свідчили про поступову активацію залізо-аскорбат-залежного окиснення, що на 30-ту добу експерименту перевищувало рівень контролю у середньому в 3,5 рази. Аналогічно протягом підгострого експерименту поступово зростала активність і NADPH-залежного ПОЛ, на 30-ту добу в середньому у 2,4 разу щодо контрольної групи тварин. Отже, на тлі затравлення щурів досліджуваними хімічними речовинами у мітросомах гепатоцитів активуються процеси ферментативного та більш виражено —

Таблиця 4

Вплив амінометилізононілфенолу та його оксіетильованих похідних дозою 1/100 LD₅₀ на рівень цитохрому P₄₅₀ у мітросомах печінки щурів, нМ/мг білка, n=6, M±m

Група щурів	Термін спостереження, доба		
	10-та	20-та	30-та
АМІНФ	1,11±0,06 p>0,05	1,66±0,05 p<0,05	1,86±0,01 p<0,05
АМІНФ ₄	1,24±0,10 p>0,05	1,75±0,15 p<0,05	1,67±0,24 p<0,05
АМІНФ ₁₂	1,10±0,07 p>0,05	1,39±0,10 p>0,05	1,58±0,18 p<0,05
Контроль	1,18±0,13	0,92±0,18	0,95±0,18

Вплив амінометилізононілфенолу та його оксіетильованих похідних дозою 1/100 LD₅₀ на неферментативне залізо-аскорбат-залежне та ферментативне NADPH-залежне перекисне окиснення ліпідів у мікросомах печінки щурів, n=6, M±m

Група щурів	Залізо-аскорбат-залежне перекисне окиснення ліпідів, нМ/мг білка			NADPH-залежне перекисне окиснення ліпідів, нМ/мг білка		
	10-та доба	20-та доба	30-та доба	10-та доба	20-та доба	30-та доба
АМІНФ	1,52±0,03 p<0,05	2,27±0,08 p<0,05	4,41±0,39 p<0,05	2,87±0,11 p<0,05	5,18±0,24 p<0,05	6,00±0,19 p<0,05
АМІНФ ₄	1,40±0,06 p>0,05	2,36±0,06 p<0,05	4,98±0,34 p<0,05	3,13±0,22 p<0,05	5,35±0,52 p<0,05	6,83±0,27 p<0,05
АМІНФ ₁₂	1,39±0,03 p>0,05	2,18±0,07 p<0,05	4,41±0,39 p<0,05	3,02±0,24 p<0,05	4,92±0,25 p<0,05	5,95±0,30 p<0,05
Контроль	1,34±0,05	1,29±0,03	1,31±0,06	2,23±0,11	2,43±0,24	2,58±0,23

неферментативного ПОЛ. Ці дані добре узгоджуються з результатами вивчення біологічної дії олігоєфірів багатоатомних спиртів, які за будовою молекул і фізико-хімічними властивостями також належать до групи поверхнево-активних речовин [10].

Висновки

1. Досліджувані хімічні речовини дозою 1/10 LD₅₀ піддаються в організмі щурів біотрансформації, що підтверджується присутністю у сечі вуглеводнів (гексану, гептану), оцтового та пропіонового альдегідів, ацетону, етилацетату, метанолу, етанолу, ізопропанолу.

2. На 30-ту добу введення щурів АМІНФ та його оксіетильованих похідних дозою 1/100 LD₅₀ спостерігається підвищення активності мікросомального окиснення у гепатоцитах, що підтверджується збільшенням швидкості споживання кисню та окиснення NADPH, вмісту цитохрому P₄₅₀. Такі зміни є захисно-приспосувальною реакцією організму на надходження чужорідних хімічних речовин, пов'язаною як з посиленням процесів їх біотрансформації, так і процесів генерації вільних радикалів і продуктів ПОЛ.

3. Наприкінці підгострого експерименту АМІНФ та його оксіетильовані похідні дозою 1/100 LD₅₀ сприяють підвищен-

ню неферментативного залізо-аскорбат-залежного (у середньому в 3,5 рази) та ферментативного NADPH-залежного (у 2,4 рази) ПОЛ у мікросомах печінки щурів, що призводить до розвитку окиснювального стресу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Землянова М. А. Современные подходы к оценке нарушений метаболизма ксенобиотиков при поступлении в организм из внешней среды / М. А. Землянова, Ю. В. Кольдибекова // Экология человека. – 2012. – № 8. – С. 8–14.
2. Danielle K. Hepatocytes: the powerhouse of biotransformation / K. Danielle, O. Pelkonen, T. Ahokas // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2012. – Vol. 44. – P. 257–265.
3. Мокеева Р. Н. Определение низкомолекулярных примесей в сточных водах производства полиоксипропиленполиолов хроматораспределительным методом / Р. Н. Мокеева, Я. А. Царфин, А. А. Карнишин // Журнал аналитической химии. – 1979. – Т. 34, № 9. – С. 1821–1824.
4. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии / В. Н. Орехович. – М.: Медицина, 1977. – 371 с.
5. Komoth S. A. Interaction of Ca²⁺ with endoplasmic reticulum of rat liver: A standardized procedures for isolation of rat liver microsomes / S. A. Komoth, K. A. Narayn // Anal. Biochem. – 1972. – Vol. 48, № 1. – P. 53–61.
6. Панченко Л. Ф. Изучение перекисления ненасыщенных жирных кислот липидов в микросомах печени крыс / Л. Ф. Панченко, А. И. Арчаков, Т. А. Александрова // Вопросы меди-

цинской химии. – 1969. – Т. 15, вып. 5. – С. 494–500.

7. Арчаков А. И. Микросомальное окисление / А. И. Арчаков. – М.: Наука, 1975. – 327 с.

8. Renaud H. J. Assessment of xenobiotic biotransformation including reactive oxygen species generation in the embryo using benzene as an example / H. J. Renaud, A. Rutter, L. M. Winn // Method Mol. Biol. – 2012. – Vol. 889. – P. 253–263.

9. Oxidative homeostasis regulates the response to reductive endoplasmic reticulum stress through translation control / S. Maity, A. Rajkumar, L. Matai [et al.] // Cell Reports. – 2016. – Vol. 16. – P. 851–865.

10. Бондарева А. В. Активність процесів ліпопероксидації у мікросомальній фракції печінки щурів при дії олігоєфірів багатоатомних спиртів / А. В. Бондарева, С. О. Стеценко // Світ медицини і біології. – 2016. – № 3 (57). – С. 98–102.

Надійшла 24.03.2017

УДК 616.092.9

В. В. Бабієнко, І. В. Сахарова, В. Ю. Левковська

ОЦІНКА БІОТРАНСФОРМАЦІЇ АМІНОМЕТИЛІЗОНОНІЛФЕНОЛУ ТА ЙОГО ОКСІЕТИЛЬОВАНИХ ПОХІДНИХ ПРИ ПІДГОСТРОМУ ПЕРОРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ ЩУРАМ

Мета дослідження — оцінити у підгострому експерименті вплив амінометилізононілфенолу та його оксіетильованих похідних з числом оксіетильованих груп 4, 12 дозою 1/100 LD₅₀ на показники мікросомального окиснення у печінці щурів.

Доведено, що досліджувані хімічні речовини дозою 1/10 LD₅₀ піддаються в організмі щурів біотрансформації, дозою 1/100 LD₅₀ на 30-ту добу введення щурам викликають підвищення активності мікросомального окиснення у гепатоцитах. Такі зміни є захисно-приспосувальною реакцією організму на надходження чужорідних хімічних речовин, пов'язаною як з посиленням процесів їх біотрансформації, так і процесів генерації вільних радикалів і продуктів ПОЛ. Виявлено, що АМІНФ та його оксіетильовані похідні дозою 1/100 LD₅₀ наприкінці підгострого експерименту сприяють підвищенню неферментативного залізо-аскорбат-залежного (у середньому в 3,5 рази) та ферментативного НАДФН-залежного (у 2,4 рази) ПОЛ у мікросомах печінки щурів, що сприяє розвитку окиснювального стресу.

Ключові слова: амінометилізононілфенол, оксіетильовані похідні, підгостре пероральне введення, біотрансформація.

UDC 616.092.9

V. V. Babiyenko, I. V. Sakharova, V. Yu. Levkovska

ESTIMATION OF BIOTRANSFORMATION OF AMINOMETHYLIZONONILFENOL AND ITS HYDROXYETHYL DERIVATIVES AT SUBACUTE PERORAL INTRODUCTION TO RATS

A research aim was to estimate in a subacute experiment influence of aminomethylisononilfenol and its hydroxyethyl derivatives with the number of oxygen groups 4, 12 in a dose 1/100 LD₅₀ on the indexes of microsome oxidization in the liver of rats.

It is well-proven that the investigated chemicals in a dose 1/10 LD₅₀ yield biotransformation in the organism of rats in a dose of 1/100 LD₅₀ on the 30th day of introduction to the rats cause the increase of activity of microsome oxidization in hepatocytes. Such changes are the protective reaction of organism to foreign chemicals. It is educed that AMINF and its hydroxyethyl derivatives in a dose 1/100 LD₅₀ at the end of subacute experiment assist the increase of no-enzyme iron-ascorbic-dependent (on the average 3.5 times) and fermentation NADPH-dependent (2.4 times) LPO in microsoma of liver of rats, that assists to development of oxidizing stress.

Key words: aminomethylisononilfenol, hydroxyethyl derivatives, subacute peroral introduction, biotransformation.

УДК 615.332:582.951.4

Ю. О. Бойко, канд. біол. наук, доц.,

О. А. Шандра, д-р мед. наук, проф.,

І. А. Бойко, канд. хім. наук,

Н. С. Фізор, канд. фарм. наук, доц.,

Н. А. Сушук, канд. фарм. наук, доц.,

В. С. Беглая,

М. С. Образенко

ФІТОХІМІЧНИЙ СКЛАД І ПРОТИЗАПАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ РІДКОГО ЕКСТРАКТУ ПЛОДІВ *CAPSICUM ANNUUM L.*

Одеський національний медичний університет

Вступ

З можливих напрямів пошуку нових речовин із протизапальною активністю перспективним є дослідження сполук рослинного походження, яким притаманні численні біологічні та фармакологічні ефекти, у тому числі й протизапальні [1; 2]. Як джерело протизапальних речовин увагу дослідників привертають плоди *Capsicum annuum L.* (перець одолітній) [3]. Найбільш цікавими біологічно активними компонентами плодів перцю однолітнього є капсаїциноїди [4] та каротиноїди [5]. Капсаїциноїди за своєю хімічною будовою належать до алкалоїдів і мають зне-

болювальну [6], антиканцерогенну дію [7], позитивно впливають на обмін ліпідів [8], захищають кардіоваскулярну та гастроінтестинальну системи [9]. Каротиноїди, у свою чергу, є потужними антиоксидантами, які сприяють нормалізації обмінних процесів під час запалення [5]. Коливання вмісту капсаїциноїдів і каротиноїдів залежно від сорту, рівня стиглості, умов вирощування й зберігання роблять необхідним процес стандартизації плодів різних сортів перцю однолітнього перед можливим застосуванням як лікарської сировини.

Метою цієї роботи було дослідження вмісту капсаїциноїдів і каротиноїдів у плодах *Capsicum*