

THE EFFECT OF LAPROXIDE L-303 ON CONNECTIVE TISSUE METABOLISM UNDER PROLONGED SUBTOXIC EXPOSURE

Kucheriavchenko M.A., Rezenenko Yu.K., Zhukov V.I., Nikolaieva O.V.

ВЛИЯНИЕ ЛАПРОКСИДА Л-303 В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО СУБТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ



**КУЧЕРЯВЧЕНКО М.А.,
РЕЗУНЕНКО Ю.К.,
ЖУКОВ В.И.,
НИКОЛАЕВА О.В.**

Харьковский
национальный
медицинский
университет

УДК: 616-018.2-008.9-
092.9-099:543.395

Ключевые слова:
ксенобиотик,
лапроксид,
олигоэфир,
соединительная
ткань.

Соединительная ткань в общей сложности составляет примерно 50% массы тела. Рыхлая соединительная ткань подкожной жировой клетчатки, компактная кость и зубы, сухожилия и межмышечные фасциальные прослойки, кожа и внутриорганный строма паренхиматозных органов, нейроглия и брюшина — все это соединительная ткань. Все разновидности соединительной ткани, несмотря на их морфологические различия, построены по общим, единым принципам, которые в основном заключаются в следующем: как и всякая другая ткань она содержит клетки, однако, по сравнению с другими тканями, их мало; межклеточное вещество занимает большую массу, чем клеточные элементы; для нее характерно наличие своеобразных волоконистых структур — коллагеновых, эластиновых и ретикулярных волокон, расположенных в окружении межклеточной субстанции; соединительная ткань богата межклеточным веществом, имеющим очень сложный химический состав, динамически изменяющийся и влияющий на структурно-метаболическую активность клеток.

Известно, что многие патологические состояния и заболевания сопровождаются структурно-ме-

таболическими нарушениями со стороны соединительной ткани. К ним могут быть отнесены атеросклероз, ревматоидный артрит, ревматизм, остеопороз, миодистрофии, системная склеродермия, дерматомиозит, хронические воспалительные заболевания внутренних органов и тканей (печень, почки, сердце, селезенка) и др. Некоторые заболевания соединительной ткани связаны с наследственными нарушениями обмена коллагена и гликозаминогликанов (ГАГ). К ним могут быть отнесены несовершенный остеогенез, синдром Марфана (наследственное заболевание, при котором наблюдаются аномалии коллагена альфа 2), синдром Элерса-Данлоса (общее название группы нарушений обмена коллагена, сочетающиеся с дистрофией кожи, повышенной подвижностью суставов). При этом заболевании биохимические нарушения включают дефицит коллагена типа II и лизилоксидазы, дефект фибронектина и нарушения проколлагена, аномальный обмен меди [1, 2]. Значительную группу наследственных заболеваний могут составлять мукополисахаридозы, при которых недостаточность лизосомальных фер-

ВПЛИВ ЛАПРОКСИДУ Л-303 В УМОВАХ ТРИВАЛОГО СУБТОКСИЧНОЇ ДІЇ НА МЕТАБОЛІЧНУ АКТИВНІСТЬ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ

Кучерявченко М.О., Резуненко Ю.К., Жуков В.І., Николаєва О.В

Мета дослідження. Вивчення тривалого субтоксичного впливу тригліцидилового ефіру поліоксипропілентріолу на показники обміну сполучної тканини в умовах підгострого експерименту.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження був тригліцидиловий ефір поліоксипропілентріолу молекулярної маси 303 з регламентованими фізико-хімічними властивостями, що є епоксиддвмісним олігоефіром з товарною назвою „Лапроксид“ (Л-303). Відповідно до умов експерименту тваринам щоденно зранку натщесерце протягом 45 днів за допомогою металевого зонду вводили перорально водні розчини Лапроксиду Л-303 у дозах 1/10, 1/100, 1/1000 ДЛ₅₀ відповідно 575,0;

57,5; 5,75 мг/кг маси тварини. Контрольна група щурів отримувала відповідні об'єми питної води. Після закінчення підгострого експерименту у плазмі крові визначали вміст глікозаміногліканів, активність ферменту еластази та колагенолітичну активність.

Результати дослідження. Результати впливу даного ксенобіотика у 1/10 1/100 ДЛ₅₀ на білих щурів виявили значне зростання активності еластази, колагенолітичної активності плазми крові та вмісту глікозаміногліканів. У цих дозах Л-303 здатен порушувати внутрішньоклітинний метаболізм, прискорювати старіння організму, формувати імунологічну недостатність та віддалені наслідки їхнього впливу. Тригліцидиловий ефір поліоксипропілентріолу у 1/1000 ДЛ₅₀ не впливав на показники обміну сполучної тканини.

Ключові слова: ксенобіотик, лапроксид, олігоефір, сполучна тканина.

© Кучерявченко М.А., Резуненко Ю.К., Жуков В.И., Николаева О.В СТАТТЯ, 2015.

№ 4 2015 ENVIRONMENT & HEALTH 10

THE EFFECT OF LAPROXIDE L-303
ON CONNECTIVE TISSUE METABOLISM
UNDER PROLONGED SUBTOXIC EXPOSURE
**Kucheravchenko M.A., Rezenenko Yu.K.,
Zhukov V.I., Nikolaieva O.V.**

Objective. We studied a prolonged subtoxic effect of triglycidyl ether of polyoxypropylene triol on the indices of connective tissue metabolism under conditions of subacute experiment.

Materials and methods. Triglycidyl ether of polyoxypropylene triol with molecular weight of 303 with the regulated physical-and-chemical properties, that is an epoxide-containing oligoether with „Laproxide” (L-303) brand name, was a subject of the research. According to the experiment conditions, daily in the morning for 45 days prior to feeding the animals were administered, using a metallic tube, the peroral water solutions of Laproxide L-303 in the doses of 1/10, 1/100, 1/1000 DL₅₀ respectively, 575.0; 57.5; 5.75 mg/kg

of the body. The rats in the control group were administered a corresponding amount of drinking water. Following the completion of subacute experiment the content of glycosaminoglycans, elastase activity and collagenolytic activity were assessed in blood plasma.

Results. The results of a given xenobiotic effect of 1/10, 1/100 DL₅₀ on white rats showed a significant increase in elastase activity, collagenolytic activity of blood plasma as well as in the content of glycosaminoglycans. L-303 in these doses is capable to disrupt an intracellular metabolism, to accelerate the aging of the body, to form the immune deficiency and remote consequences of their impact. Triglycidyl ether of polyoxypropylene triol of 1/1000 DL₅₀ did not affect the indices of connective tissue metabolism.

Keywords: xenobiotics, laproxide, oligoether, connective tissue.

ментов приводит к накоплению ГАГ и возникновению различных клинических симптомов. Эти проявления связаны с малоподвижными суставами и низким ростом, кроме синдрома Моркио, характеризующимся повышенной подвижностью суставов и подвывихами первого и второго шейного позвонков. К заболеваниям соединительной ткани может быть отнесена болезнь Педжета, обусловленная формированием повышенного количества остеобластов, рахита, развивающегося в результате недостатка или нарушения обмена витамина D, и т.д. Особую группу заболеваний соединительной ткани составляют опухоли костной ткани, легких, молочной железы, простаты и др. [3, 4]. Следует отметить, что в основе структурных нарушений соединительной ткани могут лежать различные вредные физические, химические и биологические факторы, формирующие такие патологические состояния, как пневмофиброз, цирроз печени, дерматомиозит, вибрационная болезнь и др. [5].

Цель исследования. Учитывая важную роль соединительной ткани в обеспечении це-

лостности структурно-функциональных единиц организма, органов и тканей, актуально изучение длительного субтоксического влияния на белых крыс триглицидилового эфира полиоксипропилентриола на показатели обмена соединительной ткани в условиях подострого опыта.

Материалы и методы исследования. В работе был использован новый олигоэфир на основе окиси пропилена с регламентированными физико-химическими характеристиками — триглицидиловый эфир полиоксипропилентриола молекулярной массы 303 (Л-303), широко применяющийся в различных отраслях народного хозяйства для получения пластмасс, пенопластов, термопластов, эпоксидных смол, лаков, эмалей и др. На основании оценки параметров острой токсичности исследуемый ксенобиотик относится к малотоксичным соединениям (4 класс опасности), не обладает кумулятивными свойствами и видовой чувствительностью. Среднесмертельная доза (ДЛ₅₀) на белых крысах была установлена на уровне 5,75 г/кг массы животного, а коэффициент кумуляции (Кк) — на уровне

7,6. Выбор данного олигоэфира обоснован отсутствием сведений в научной литературе о механизме его биологического действия и необходимостью получения прогностической характеристики потенциальной опасности для человека и окружающей среды.

Программа исследования предусматривала проведение подострого токсикологического опыта на половозрелых белых крысах популяции Вистар массой 180-200 г. В соответствии с условиями эксперимента животным ежедневно утром до кормления на протяжении 45 суток с помощью металлического зонда вводились перорально водные растворы Лапроксида Л-303 (товарное название) в дозах 1/10, 1/100, 1/1000 ДЛ₅₀ соответственно 575,0; 57,5; 5,75 мг/кг массы животного. Контрольная группа крыс получала соответствующие объемы питьевой воды. В экспериментальной части работы было использовано 40 животных при соблюдении биоэтики и принципов „Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для научных и других целей” (Страсбург, 1985 г.).

Таблица

Влияние Лапроксида Л-303 на метаболическую активность соединительной ткани под воздействием субтоксических доз в подостром опыте

Показатели	Группа наблюдения, ДЛ ₅₀ (M ± m)			
	Контроль	1/10	1/100	1/1000
Эластаза (ПГ/мл), сыворотка	36,2±3,88	184,7±12,56*	118,3±8,92*	33,6±3,46
Гликозаминогликаны (мкмоль/л), сыворотка	42,6±3,43	117,7±8,27*	72,56±5,83*	36,7±3,85
Коллагенолитическая активность плазмы крови (мкмоль оксипролина / л · ч)	8,7±0,95	77,53±6,18*	34,63±4,15*	8,3±0,84

Примечание: * — различия достоверные, p ≤ 0,05.

По окончании подострого опыта в плазме крови определялось содержание ГАГ, активность фермента эластазы и коллагенолитическая активность (КЛА) сыворотки крови, которые способны дать ценную информацию о состоянии структурно-метаболических и обменных процессов в соединительной ткани. Источником КЛА могут быть фермент коллагеназа и другие протеазы тканей, органов пищеварения и форменных элементов крови [4, 5]. Показано, что коллагеназа играет пусковую роль в ферментативном расщеплении коллагена. Оценку КЛА плазмы крови осуществляли по суммарному количеству (при ферментативном гидролизе) свободного и пептидно-связанного оксипролина. Для этого находили по калибровочной кривой соответствующее оптической плотности значение количества оксипролина при длине волны $\lambda = 570$ мкм. Величину КЛА сыворотки крови выражали в микромолях оксипролина на 1 л плазмы крови за 1 час (мкмоль / л · ч) [6]. Суммарные гликозаминогликаны (кислые мукополисахариды) определяли с использованием трихлоруксусной кислоты и известной карбазольной реакции, обеспечивающей фиолетово-розовое окрашивание. Фотометрирование исследуемых образцов проб осуществляли при длине волны $\lambda = 530$ нм. Содержание ГАГ в сыворотке крови выражали через гексуроновые кислоты в мкмоль/л [7]. Эластаза в сыворотке крови исследовалась иммуноферментным методом с помощью моноклональных антител и набора реактивов (Elastase Elisa RD 191 21 100) по прилагаемой инструкции фирмы "Biovendor" (Германия). Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием критерия Стьюдента-Фишера и прикладной программы "Биостатистика".

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты изучения структурно-метаболического состояния соединительной ткани обнаружили высокую активность эластазы, коллагенолитической активности плазмы крови и повышение содержания в сыворотке гликозаминогликанов (табл.). Ис-

следования показали, что наиболее значимые нарушения обмена соединительной ткани отмечались в группе животных, токсифицированных 1/10 ДЛ₅₀. Доза 1/100 ДЛ₅₀ в меньшей мере оказывала влияние на обмен соединительной ткани. Триглицидиловый эфир полиоксипропилентриола — Л-303 в 1/1000 ДЛ₅₀ не влиял на показатели обмена соединительной ткани.

Так, эластаза повышалась на 410,22% и 226,79%, КЛА плазмы — на 791,14% и 298,04%, ГАГ — на 176,29% и 70,32%, соответственно под влиянием 1/10 и 1/100 ДЛ₅₀. Триглицидиловый эфир полиоксипропилентриола Л-303 в дозе 1/1000 ДЛ₅₀ не оказывал влияния на метаболическую активность соединительной ткани в условиях длительной токсификации лабораторных животных.

Выводы

Таким образом, результаты изучения субтоксического воздействия Л-303 на белых крыс в 1/10 и 1/100 ДЛ₅₀ позволяют судить, что исследуемый ксенобиотик в таких дозах способен вызывать структурно-метаболические нарушения в соединительной ткани, выполняющей опорную, механическую, связующую, защитную, иммунологическую, дренажную, транспортную, пластическую и многие другие функции организма. Обнаруженные изменения мониторинговых показателей оценки состояния метаболической активности соединительной ткани позволяют судить о политропном действии триглицидилового эфира полиоксипропилентриола Л-303 и многообразии патологических проявлений в условиях длительного субтоксического воздействия ксенобиотика на организм теплокровных животных в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ₅₀. В таких дозах Л-303 способен нарушать внутриклеточный метаболизм, ускорять старение организма, формировать иммунологическую недостаточность и отдаленные последствия их влияния. Недействующая доза на структурно-метаболическое состояние соединительной ткани определена на уровне 1/1000 ДЛ₅₀.

ЛИТЕРАТУРА

1. Омеляненко Н.П. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) / Н.П. Омеляненко,

Л.И. Слуцкий. — Москва : Известия, 2010. — 600 с.

2. Морозенко Д.В. Биохимические показатели состояния соединительной ткани в диагностике болезней: метод, рек. / Д.В. Морозенко, В.И. Левченко, О.П. Тимошенко. — Белая Церковь, 2012. — 42 с.

3. Канунго М. Биохимия старения / М. Канунго. — М. : Мир, 1982. — 238 с.

4. Практикум по биохимии: учебное пособие / В.П. Вистовская, А.Н. Иркитова, И.Д. Бородулина, Е.П. Мякишева. — Барнаул : изд-во АлтГУ, 2013. — 202 с.

5. Серов В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В.В. Серов, А.Б. Шехтер. — М. : Медицина, 1981. — 312 с.

6. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П.Н. Шараев, В.Н. Пишков, Н.Г. Зворыгина и др. // Лабораторное дело. — 1987. — № 5. — С. 330-332.

7. Шараев П.Н. Определение коллагенолитической активности плазмы крови / П.Н. Шараев, В.Н. Пишков, Н.Г. Зворыгина // Лабораторное дело. — 1987. — № 1. — С. 60-62.

REFERENCES

1. Omelianenko N.P. and Slutskii L.I. Soedinitelnaia tkan (gistofiziologiya i biokhimiia) [Connective Tissue (Histophysiology and Biochemistry)]. Moscow : Izvestiia; 2010: 600 p. (in Russian).

2. Morozhenko D.V., Levchenko V.I. and Timoshenko O.P. Biokhimicheskie pokazateli sostoianii soedinitelnoi tkani v diagnostike boleznei: metod, rekomendatsii [Biochemical Indices of the State of the Connective Tissue in Diseases' Diagnosis: Method, Recommendations]. Belaia Tserkov; 2012: 42 p. (in Russian).

3. Kanungo M. Biokhimiia starenia [Biochemistry of Aging]. Moscow : Mir; 1982: 238 p. (in Russian).

4. Vistovskaia V.P., Irkitova A.N., Borodulina I.D. and Miakisheva E.P. Praktikum po biokhimi: учебное пособие [Practical Work in Biochemistry : Manual]. Barnaul ; 2013: 202 p. (in Russian).

5. Serov V.V. and Shekhter A.B. Soedinitelnaia tkan (funktsionalnaia morfologiya i obshchaia patologiya) [Connective Tissue (Functional Morphology and General Pathology)]. Moscow : Meditsina; 1981: 312 p. (in Russian).

6. Sharaev P.N., Pishkov V.N., Zvorygina N.G., Solovieva N.I., Shirobokova T.Yu., Solovieva T.V., Solopaev A.A. and Alekseeva N.K. Laboratornoe delo. 1987; 5: 330 — 332. (in Russian).

7. Sharaev P.N., Pishkov V.N. and Zvorygina N.G. Laboratornoe delo. 1987; 1: 60 — 62. (in Russian).

Надійшла до редакції 10.07.2015