

УДК 615.361

Вплив ДДТ

Досліджувані

Кількість (мг%)

Відносна активність
(%)

Зниження рівня АТ
шень у тканині мозку,
важливих кофакторів е
клеотидів.

Так при введенні ДДТ клієнтів знижується на контроль, тоді як вміст введенні ДДТ і на 17% жуються під впливом ц ДДТ і практично не зм

При вивченні впливу тинамідних коферментів новлено, що вміст їх у дріях, надосадовій рідині впливом ДДТ, за винятку викликають приблизно о-

Привертає увагу знікотинамідних коферментів, дає можливість припустити переключення перетворення Кребса на шлях прямої

Очевидно, ДДТ мал
них коферментів, який
ження кількості коферм
зультатом прискореного

Проведені дослідження підтвердили наше припущення. Активність підвищується під впливом мітохондріальних — на 56%. НАД-розщеплюючих ферментів.

Одержані дані дають значного зменшення ДДТ є як активація ді-

5. Фізіологічний журнал № 3

Методика досліджень

Досліди проведені на білих щурах-самцях вагою 180—200 г. Пестициди вносили в олії *per os* щодня протягом п'яти місяців у дозах: ДДТ—3,5 мг/кг; севін—7,2 мг/кг, що становить 1/100 ЛД₅₀. Контрольним щурам давали таку ж кількість олії, як і піддослідним. Таке тривале введення і порівняно мала доза були застосовані у зв'язку з тим, що в клініці отруєнь пестицидами переважають хронічні форми як наслідок забруднення цими препаратами об'єктів зовнішнього середовища і продуктів харчування.

Для вивчення інтенсивності оновлення АТФ за 2 год до декапітації тваринам вводили підшкірно $\text{Na}_2\text{HPR}^{32}\text{O}_4$ з розрахунку 10000 імн/хв на 1 г ваги. Вміст АТФ у головному мозку визначали за кількістю фосфору, що відщелнюється від АТФ під час гідролізу в н-НСІ після осадження АТФ оцтовокислою ртуттю.

Вміст неорганічного фосфору визначали за Фіске—Суббароу. Інтенси́вність обміну АТФ виражали в одиницях відносної активності (ВА)—відношення активності фосфору АТФ до неорганічного фосфору в 1 г тканини [8]. З гомогенату шляхом диференційного центрифугування одержували фракції мітохондрій. Вміст нікотинамідних коферментів (окислені та відновлені форми) визначали флюорометричним методом [21], активність НАД-розщеплюючих ферментів—за методом Каплан [22] в модифікаціях Северіна та ін. [9]. Інтенси́вність гліколізу визначали за кількістю молочної кислоти, що утворюється при інкубації гомогенату або надосадової рідини в середовищі, що містило глюкозу як субстрат. Вміст молочної кислоти визначали за методом Діше—Орловського [23]. Вплив мітохондріальних факторів на гліколіз визначали за методом Нейфаха [7]. Активність фосфофруктокінази (ФФК) визначали за методом Андервуд і Ньюсхолм [25]; альдолази—за методом Григор'євої [2].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень з радіоактивним фосфором свідчать, що ДДТ і севін викликають зменшення кількості АТФ та її відносної активності (ВА). Порівнюючи кількісні зміни АТФ з відповідними величинами відносної активності, можна зробити висновок, що виявлене зниження вмісту АТФ є наслідком гальмування її синтезу в тканині мозку, як при дії ДДТ, так і, в меншій мірі, при дії севіну (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив ДДТ і севіну на обмін АТФ у тканині мозку

Досліджувані показники	Контроль	ДДТ	Севін
Кількість (мг%)	12,5 ± 0,55	8,0 ± 0,66 $p < 0,001$	9,1 ± 0,2 $p < 0,001$
Відносна активність (%)	58 ± 1,6	27,0 ± 3,0 $p < 0,001$	44,0 ± 2,0 $p < 0,001$

Зниження рівня АТФ призводить до цілого ряду обмінних порушень у тканині мозку, одним з яких є зменшення синтезу найбільш важливих кофакторів енергетичного обміну — нікотинамідаденіндинуклеотидів.

Так при введенні ДДТ загальний вміст нікотинамідаденіндинуклеотидів знижується на 20%, а при введенні севіну — на 7% щодо контролю, тоді як вміст окислених форм — знижується на 25% при введенні ДДТ і на 17% при введенні севіну. Відновлені форми знижуються під впливом цих речовин мало, лише на 11% при введенні ДДТ і практично не змінюються при введенні севіну.

При вивченні впливу цих хімічних агентів на стан системи нікотинамідних коферментів у субклітинних елементах мозку було встановлено, що вміст їх в усіх субклітинних елементах (ядрах, мітохондріях, надосадовій рідині) при дії пестицидів знижується більше під впливом ДДТ, за винятком ядерної фракції, де обидва препарати викликають приблизно однакову дію (табл. 2).

Привертає увагу значне підвищення вмісту відновлених форм нікотинамідних коферментів у мітохондріях при введенні севіну. Це дає можливість припустити, що за цих умов частково відбувається переключення перетворення глюкозо-6-фосфату з шляху Ембдена — Кребса на шлях прямого окислення (пентозний).

При дії ж ДДТ найбільші зміни вмісту нікотинамідних коферментів відбуваються за рахунок окислених форм в мітохондріях, потім в надосадовій рідині і, нарешті, в ядрах.

Очевидно, ДДТ мало впливає на процес утворення нікотинамідних коферментів, який відбувається в ядрах, а виявлене нами зниження кількості коферментів в надосадовій рідині і мітохондріях є результатом прискореного їх розщеплення.

Проведені дослідження НАД-розщеплюючих ферментів підтвердили наше припущення. Активність НАД-розщеплюючих ферментів значно підвищується під впливом ДДТ: в надосадовій рідині на — 115%, в мітохондріях — на 56%. Севін не викликав подібних змін активності НАД-розщеплюючих ферментів у клітинних фракціях мозку.

Одержані дані дають можливість зробити висновок, що причиною значного зменшення вмісту нікотинамідних коферментів при дії ДДТ є як активація дії НАД-розщеплюючих ферментів, так і, мож-

Таблиця 2
Вплив ДДТ і севіну на вміст нікотинамідаденідинуклеотидів у клітинних фракціях мозку (в мкг/г тканини)

Досліджувані показники	Контроль	ДДТ	Севін
Ядра			
Загальна кількість	67,0±1,6	51,1±1,54 $p<0,01$	53,5±2,08 $p<0,01$
Окислені форми	38,2±0,77	27,2±1,01 $p<0,01$	28,4±1,64 $p<0,01$
Відновлені форми	28,8±1,58	23,9±0,74 $p<0,05$	25,1±0,69 $p<0,05$
Мітохондрії			
Загальна кількість	59,2±1,44	37,6±2,43 $p<0,001$	51,8±1,27 $p<0,05$
Окислені форми	34,4±1,44	20,1±0,82 $p<0,001$	27,2±1,24 $p<0,2$
Відновлені форми	24,8±0,67	17,5±1,72 $p<0,01$	24,8±1,28 $p<0,05$
Надосадова рідина			
Загальна кількість	167,4±4,25	119,0±5,42 $p<0,01$	144,1±3,15 $p<0,05$
Окислені форми	93,3±1,74	71,2±4,60 $p<0,01$	82,1±2,54 $p<0,05$
Відновлені форми	74,4±2,82	48,1±1,71 $p<0,01$	62,2±0,96 $p<0,05$

ливо, зниження процесів синтезу цих коферментів, тоді як причиною деякого зниження нікотинамідних коферментів при введенні севіну є, мабуть, тільки зниження синтетичних процесів, оскільки при дії севіну максимальне зниження виявлено в ядрах — основному місці біосинтезу нікотинамідаденідинуклеотидів.

Одну з головних причин зниження кількості відновлених форм нікотинамідів у надосадовій рідині при введенні ДДТ слід шукати в порушеннях процесу гліколізу, який, як відомо, в основному протікає в цитоплазмі. Результати наших досліджень з цього питання підтвердили це припущення.

Таблиця 3
Вплив ДДТ і севіну на регуляцію гліколізу мітохондріальними факторами (в мкг молочної кислоти/мг білка)

Умови дослідження	Надосадова рідина	Фактори	
		Нуклеотидний	Білково-ліпідний
Контроль	237,0±10,5	330,3±33,0	537,0±50,0
ДДТ	94,7±7,2 $p<0,001$	140,6±5,7 $p<0,001$	265,2±19,7 $p<0,001$
Севін	118,0±6,1 $p<0,001$	156,0±11,6 $p<0,001$	315,3±21,2 $p<0,001$

У табл. 3 наведені дані про вплив ДДТ і севіну на надосадову рідину і активуючий та регулюючий фактори — нуклеотидного та білково-ліпідного характеру. Знижується значно більш

Оскільки при введенні ДДТ порушення в інтенсивності гліколізу тривалого введення ДДТ призводить до порушення гліколізу — альдолази, зменшення активності ФФК — на 20%, альдолази, зменшення активності ферментів.

Аналіз наведених даних свідчить про порушення гліколізу при тривалому введенні ДДТ. Зменшення активності факторів, зменшення вмісту АТФ, але механізм цього порушення на деякі з досліджень.

Зменшення вмісту АТФ, зменшення активності мітохондріальних факторів дають підставу для припущення, що порушення на проникність мітохондріальних мембран наш погляд, є вірним, і також на мітохондріях.

Крім цього було встановлено, що в мітохондріях містяться контрактильні властивості подібного білка, виділені з мітохондріальних матеріалів при впливі ДДТ, нікотинамідів, білків, ліпідів, нікотинамідів. Це певно тривалим перебуванням мітохондріальних факторів.

Проникнення ДДТ в мітохондрії печінки [13], викликає порушення енергетичного обміну в мітохондріях.

Порушення енергетичного обміну в мітохондріях при тривалому введенні ДДТ лежать в основі патології.

Тривале введення ДДТ в тканини мозку: 1) зниження активності коферментів; 2) переробка білків; 3) підвищення активності факторів; 4) зниження інтенсивності факторів; 5) гальмування кінетики.

1. Белоножко Г. А., Клиникова отравлений, К., 1969.
2. Григор'єва В. А., М., 1969.
3. Кузьминская У. А., В сб.: Митохондрии. Б., 1969, 37.
4. Кузьминская У. А.,

У табл. 3 наведені дані, які свідчать, що під впливом ДДТ і севіну в надосадовій рідині значно знижується гліколітична активність і активуючий та регулюючий вплив на неї мітохондріальних факторів — нуклеотидного та білково-ліпідного. Дія нуклеотидного фактора знижується значно більше під впливом ДДТ, ніж севіну.

Оскільки при введенні досліджуваних пестицидів виявлені значні порушення в інтенсивності процесу гліколізу, ми вивчали також вплив тривалого введення ДДТ і севіну на активність двох важливих ферментів гліколізу — альдолази та фосфофруктокінази (ФФК). В цих умовах активність згаданих ферментів знижується при дії ДДТ: ФФК — на 20%, альдолази — на 15% щодо контролю; при дії севіну зниження активності ферментів становило 25—30% відповідно.

Аналіз наведених даних дає можливість зробити висновок, що тривале введення ДДТ або севіну значно знижує енергетичний потенціал клітин мозку за рахунок гальмування активності ферментів гліколізу, зниження активуючого впливу на гліколіз мітохондріальних факторів, зменшення вмісту нікотинамідних коферментів і синтезу АТФ, але механізм цього впливу різний, що пояснюється різним впливом на деякі з досліджених показників.

Зменшення вмісту нікотинамідних коферментів у мітохондріях, зниження активності мітохондріальних, регулюючих гліколіз факторів дають підставу для припущення про безперечну дію хімічних факторів на проникність мітохондріальних мембран. Це припущення, на наш погляд, є вірним, оскільки аналогічні дані були нами одержані також на мітохондріях печінки [12—14].

Крім цього було встановлено, що під впливом ДДТ і севіну змінюються контрактильні властивості мітохондрій [4—15] та стан актоміозиноподібного білка, виділеного з них [3]. При порівняльному аналізі одержаних матеріалів привертають увагу дані, які вказують на значно більший вплив ДДТ, ніж севіну на клітинні енергетичні та регуляторні механізми. Це певною мірою, на нашу думку, можна пов'язати з тривалим перебуванням ДДТ у клітинах мозку, завдяки його високим кумулятивним властивостям [18, 19].

Проникнення ДДТ в мітохондрії, виявлене нами на мітохондріях печінки [13], викликає функціональну дезорганізацію їх, і як наслідок цього — порушення енергетичних процесів у клітині.

Порушення енергетичних механізмів і процесів проникнення в умовах хронічного отруєння цими хімічними речовинами, очевидно, лежать в основі патологічних явищ з боку нервової системи.

Висновки

Тривале введення малих доз пестицидів — ДДТ і севіну викликає в тканині мозку: 1) зниження синтезу АТФ і кількості нікотинамідних коферментів; 2) перерозподіл нікотинамідних коферментів у клітинних фракціях; 3) підвищення активності НАД-розщеплюючих ферментів; 4) зниження інтенсивності гліколізу і його регуляції мітохондріальними факторами; 5) гальмування активності альдолази і фосфофруктокінази.

Література

1. Белоножко Г. А., Кучак Ю. А. — В сб.: Гигиена и токсикол. пестицидов и клиника отравлений, К., 1966, 149.
2. Григор'єва В. А., Медовар О. Н. — Укр. біохім. журн., 1966, 38, 1, 77.
3. Кузьминская У. А., Хайкина Б. И., Павлова И. И., Якушко В. Е. — В сб.: Митохондрии. Биохимич. функции в системе клеточных органелл, М., 1969, 37.
4. Кузьминская У. А. — Фармакол. и токсикол., 1971, 2.

5. Маковська Е. І., Серебряна С. Г.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1961, 7, 2, 251.
6. Маковская Е. И.—Врач. дело, 1964, 3, 117.
7. Нейфах С. А., Казакова Т. Б., Мельникова М. П., Туровский В. С.—В сб.: Углеводы и углеводн. обмен, М., 1962, 106.
8. Райскина М. Е.—Биохимия нервной регуляции сердца, М., 1962.
9. Северин С. Е., Цейтлин Л. А., Дружинина Т. Н.—Биохимия, 1963, 28, 145.
10. Серебряная С. Г., Маковская Е. И., Раппопорт М. Б., Любенко П. А.—В сб.: Гигиена и физиол. труда, производств. токсикол. и клиника проф. забол., К., 1963, 63.
11. Серебряная С. Г., Маковская Е. И., Любенко П. А.—В сб.: Гигиена и токсикол. пестицидов и клиника отравлен., К., 1965, 65.
12. Хайкина Б. И., Кузьминская У. А.—В сб.: Гигиена и токсикол. пестицидов и клиника отравлен., К., 1967, 217.
13. Хайкина Б. И., Кузьминская У. А.—В сб.: Гигиена и токсикол. пестицидов и клиника отравлен., К., 1968, 167.
14. Хайкина Б. И., Кузьминская У. А.—В сб.: Труды выездной сессии АМН СССР, Кишинев—М., 1969, 325.
15. Хайкина Б. И., Островская А. Х.—В сб.: Гигиена и токсикол. пестицидов и клиника отравл., К., 1967, 240.
16. Яким В. С.—В сб.: Гигиена и токсикол. пестицидов и клиника отравл., К., 1965, 523.
17. Carpenter C., Weil C., Palm P., Woodsial W., Naik P., Smyth J.—J. Agric. Food. Chem., 1961, 9, 30.
18. Dale W., Gaines J., Klein A.—Science, 1963, 142, 593.
19. Dale W., Cepeland W., Pearce G., Milec J.—Arch. intern. Pharmacodyn. et Therap., 1966, 162, 40.
20. Desi J., Farkas J., Kemeny F.—Experimentia, 1968, 24, 1, 51.
21. Huff J., Perlzweig W.—J. Biol. Chem., 1947, 167, 1, 151.
22. Kaplan N., Goldin A., Humphreys S.—J. Biol. Chem., 1956, 219, 287.
23. Orlovsci T.—Polsk arch. medic. wewnietrz., 1948, 18, 53.
24. Pollock L., Wang R.—Chem. A Zbl., 1956, 14, 3927.
25. Underwood A., Newsholme A.—Biochem. J., 1965, 95, 868.

Надійшла до редакції
7.IV 1971 р.

EFFECT OF SOME NEUROTOXIC FACTORS ON BRAIN ENERGETIC METABOLISM

B. I. Khaikina, U. A. Kuzminskaya, V. E. Yakushko, I. I. Pavlova

*Institute of Hygiene and Toxicology of Pesticides, Polymeric
and Plastic Masses, Kiev*

Summary

Pesticides — DDT (dichlordiphenyltrichloroethane) and sevin (N-methyl-naphthyl-carbamate) were introduced to albino rats per os in doses of: DDT—3.5 mg/kg, sevin—7.2 mg/kg every day for 5 months.

It was established that prolong administration of the investigated preparations evokes a decrease in ATP quantity in brain tissue and its relative activity (investigation with application of radioactive phosphorus). The level of nicotinamidadeninedinucleotides considerably decreases and their redistribution occurs between cellular structures different for oxidated and reduced forms. The activity of NAD-splitting enzymes increases. It is shown that prolong administration of pesticides decreases both glycolysis intensity in cytoplasm and activating effect of mitochondrial regulating factors on it; considerable changes are also found in the activity of basic enzymes of glycolysis — phosphofructokinase and aldolase. Almost in all the cases DDT evoked more considerable shifts, than sevin.

On the basis of the data obtained an assumption is made on a pronounced effect of the studied chemical substances (pesticides) on the permeability of mitochondrial membranes. Shifts in energetic mechanisms and processes of permeability, in the author's opinion, might be a reason of pathological phenomena in nervous system observed during chronic intoxications with pesticides.

ПРОНИКНІСТЬ ТА ВПЛИВ НА НЕЇ

М. А.

Київський і

Збільшенню проник-
монального бар'єрів нада-
процесів при дії різних
шляхи [2, 3, 5, 6, 9, 10].
гемато-пульмонального б-
гень у людей та тварин [1].
проникності гісто-гематич-

В літературі є числе-
ні речовини, похідні сал-
в різній мірі діють на п-
деяких внутрішніх орган-
сполук на збільшену пр-
винятком повідомлення [1].
но запобігають розвитку
шурів, в літературі нема-
для лікування гострих п-

Нами проведено пор-
них нестероїдних протиз-
лотн (саліцилат натрію)
та піразолону (бутадіон)
бар'єрів шкіри та легене-

Збільшення проникності
помогою ксилолу [5]. Для ць-
ріочеревино вводили мефе-
65 мг/кг та бутадіон—25 мг
шей при внутріочеревино-
чин синього Евансу з розра-
ділянку шкіри живота нанос-
(у хв) утворення забарвлено-

Вплив протизапальних і
ра вивчали на шкурах з доп-
розчину хлористого амонію з
то-пульмонального бар'єра
тварин. Досліджували препара-
дозах. Ефективність оцінюва-
20—30 хв після введення хлс-
легень (відношення ваги леге-
кож на підставі морфологі-
тварин.

Контролем служили нелі-