

УДК:616-092.18-008.9:661.177

**ПАРАМЕТРИ РЕЦЕПТОРНОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ ТА МЕДІАТОРНОЇ
РЕГУЛЯЦІЇ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ У
ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ВПЛИВІ БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ
ОРГАНІЧНИХ СУМІШЕЙ**

О.В.Сіренко, Е.О.Кучеренко

**Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра клінічної
лабораторної діагностики. Харків.**

Ключові слова: нейромедіатори, рецепторне зв'язування, ліганди, метаболізм.

Багатокомпонентні органічні суміші, синтезовані на основі гліколів, широко використовуються у побуті та промисловості, що обумовлює доцільність дослідження їх впливу на метаболічні процеси, які забезпечують оптимальний фізіологічний стан організму. Походячи з положення про первинність взаємодії ксенобіотика з цитоплазматичною мембраною та рецепторами, думка сучасних авторів про провідну значущість досліджень міжклітинних взаємозв'язків та інтегративних систем гомеостазу, які відіграють важливу роль в патогенезі порушень метаболізму, що призводять до виникнення патологічних станів, є актуальною [1]. Складні пристосовані реакції гомеостазу на вплив хімічних факторів пов'язані з перебудовою регуляторних систем метаболізму, метою якої є адекватний процес адаптації і збереження динамічної постійності внутрішнього середовища організму [1]. Масштаби використання багатокомпонентних органічних сумішей, синтезованих на основі гліколів, а також наявність у них мембранотропних властивостей [2] обумовили актуальність дослідження стану системи вторинних месенджерів, нейромедіаторів і параметрів рецепторного зв'язування при тривалій дії даних речовин на організм. Як вважають автори, використання деяких лабораторних досліджень на тваринах (для попередньої оцінки патогенетичних метаболічних порушень) у подальшому дозволить екстраполювати отримані дані на людей [2,3]. Відома важливість визначення деякої кількості лабораторних показників як

моніторингових, потрібних при обстеженні великих контингентів населення [4]. Оцінка регуляторних систем дозволить уточнити характер внутрішньоклітинних структурно-метаболических порушень під впливом складних органічних сумішей, тому дослідження рецепторного апарату клітини має значення для визначення патогенетичних механізмів порушення гомеостазу шляхом дослідження гормональної регуляції. Будучи сенсорами ендокринної системи, рецептори здатні зв'язуватися з хімічними сполуками, які мають конкурентні властивості стосовно гормонів, що неминуче впливає на стан внутрішньоклітинного метаболізму [4]. У той же час, обмін речовин контролюється гормонами, і порушення гормональної регуляції, викликане зміною параметрів рецепторного зв'язування, буде негативно впливати на адаптаційні метаболічні процеси. Однією з перших реакцій на стрес, у тому числі, токсичний, є мобілізація функцій різних клітинних субпопуляцій і структур, що відповідно до щільності рецепторів на їхній поверхні і ступеню їх афінності [2]. Підвищена стимуляція клітинної активності викликає адаптаційні перебудови гомеостазу, які є запобіжним механізмом в умовах гіперстимуляції і дозволяють клітині повернутися в стан фізіологічного спокою по мірі реалізації функції, що може бути досягнуте за рахунок зниження числа рецепторів [2,3]. Захисно-приспосувальні реакції організму на вплив ксенобіотиків багато в чому залежать від гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової системи - центральної ланки нейроендокринної регуляції, і стану рецепторного зв'язування [3]. Оптимальне функціонування цієї системи визначає як реалізацію метаболічної активності клітин у відповідь на стрес, так і збереження гомеостатичної стабільності в умовах підвищеного хімічного навантаження на рецепторний апарат.

Метою роботи було визначення стану параметрів рецепторного зв'язування і системи медіаторної регуляції внутрішньоклітинного метаболізму у білих щурів, в умовах дії субтоксичних доз багатокомпонентних органічних сумішей.

В експерименті використовували 112 щурів популяції Вістар (самці, самиці) масою 180 ± 10 г, яким протягом 30 діб (підгострий експеримент) щодня внутрішньошлунково вводили 0,184 г/кг охолоджувальної рідини (ОР-40) і 0,117

г/кг гідралічної рідини (ГдР), що відповідає 1/100 LD₅₀ цих речовин. Основними компонентами даних органічних сумішей є полііоли марок Лапрол 502-2-100 і Лапрол 604. Наприкінці експерименту тварин забивали методом цервікальної дислокації під легким ефірним наркозом. Параметри рецепторного зв'язування мічених агоністів і антагоністів C₁, C₂ – серотонінових; α₁, α₂, β₁-адрено-, Д₂-дофамінових і кількість глюкокортикоїдних другого типу рецепторів вивчали в головному мозку і печінці тварин. Параметри зв'язування (рівноважну константу дисоціації K_d і максимальне число місць зв'язування V_{max}) лігандів моноамінергічних рецепторів визначали методом рівноважного зв'язування селективних лігандів з гомогенатом (для адрено- і дофамінових рецепторів) і з фракцією грубих мембран фронтальної кори, стовбура, мозочка для серотонінових. Радіолігандний аналіз параметрів зв'язування антагоніста α₁-адренорецепторів визначали по методу D.U'Prichard et al. [6], використовували набори фірми “Amersham International pl” (Великобританія), β-адренорецепторів - методом D.V.Bylund, S.H.Snyder [7], параметри зв'язування селективних лігандів серотонінових рецепторів - по методу S.J.Peroutka, S.H.Snyder [5]. Величину специфічного зв'язування визначали по різниці між загальним і специфічним зв'язуванням, результати аналізували в координатах Скэтчарда. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми Statistica 4.5, результати визначали у виді середніх арифметичних та їх стандартних помилок, вірогідність різниці між величинами, що порівнювали, визначали за t-критерієм Стьюдента.

Досліджувані органічні суміші у всіх випадках змінювали параметри рецепторного зв'язування (табл.).

Таблиця

Вплив гідралічної і охолоджувальної рідин на параметри рецепторного зв'язування (M ± m).

Об'єкт дослідження, (тканини)	Параметри		Органічні суміші, 1/100 LD ₅₀ .		
			OP-40	ГдР	Контроль
	α ₁	K _d	16,13±0,09*	49,18±2,03*	2,80 ± 0,07

Адренорецептори (K_d - нмоль, V_{max} - фмоль/мг білка), головний мозок	β	V_{max}	1,73±0,01*	1,10±0,001*	0,61±0,03
		K_d	17,23±0,18*	23,15±0,08*	1,60±0,07
		V_{max}	0,14±0,01	2,59±0,06*	0,21±0,03
Адренорецептори (K_d - нмоль, V_{max} - фмоль/мг білка), печінка	α_1	K_d	24,15±0,26*	75,9±0,33*	7,11±0,08
		V_{max}	0,62±0,01	1,08±0,001*	0,59±0,001
	β	K_d	1,29±0,03*	35,23±0,09*	4,1±0,05
		V_{max}	0,04±0,001*	0,67±0,001*	0,19±0,005
Адренорецептори (K_d - нмоль, V_{max} - фмоль/мг білка), довгастий мозок	α_2 ,	K_d	4,0±0,03*	2,68±0,01*	6,12±0,09
		V_{max}	0,085±0,001*	0,076±0,0003*	0,47±0,002
Дофамінові рецептори (K_d - нмоль, V_{max} - фмоль/мг білка), кора головного мозку	D_2	K_d	0,19±0,01*	0,27±0,002	0,38±0,01
		V_{max}	67,12±1,18*	66,89±1,09*	85,14±2,01
Серотонінові рецептори (K_d - нмоль, V_{max} - фмоль/мг білка), кора головного мозку	C_1	K_d	1,26±0,04	1,56±0,03*	1,34±0,06
		V_{max}	372,51±2,74*	341,30±2,42	286,72±7,34
	C_2	K_d	0,23±0,01*	0,08±0,006*	0,15±0,01
		V_{max}	23,99±0,33*	18,56±0,44*	29,13±0,41
Глюкокортикоїдні рецептори другого типу (фмоль/мг білка).	Печінка		768,32±12,49*	1217,48±55,08*	445,73±14,61
	Мозочок		1067,21±43,16*	624,81±38,12*	481,85±41,37
	Стовбур головного мозку		2798,57±53,59*	2979,16±78,31*	897,72±63,12
	Кора головного мозку		1298,95±35,10*	1495,74±52,68*	572,29±64,13

Нотатка: * - розходження показників вірогідні, ($p < 0,05$).

Вірогідно знижувалася спорідненість до лігандів α_1 - і β - адренорецепторів у тканині головного мозку під впливом речовин, у той же час, у печінці дія ОР-40 викликала підвищення показників. Порушення параметрів радіолігандного зв'язування співвідноситься з переважним зменшенням кількості місць рецепторного зв'язування, отриманим в експерименті і найбільш вираженим в тканинах щурів, що одержували ОР-40. Відзначалося зниження спорідненості ліганда (3H -раувольсина) до α_2 - адренорецепторів, що могло індукувати

підвищення внутрішньоклітинного рівня цАМФ шляхом активації аденілатциклази [8]. Ступінь впливу органічних речовин на D_2 -дофамінові рецептори був менш вираженим: знижувалося число місць рецепторного зв'язування і спорідненість до ліганду (3H -спіперон) у присутності ОР-40. Дофамінові D_2 -рецептори беруть участь в інактивації аденілатциклази, що також могло впливати на вміст внутрішньоклітинного цАМФ. Серотонінергічну медіаторну систему досліджували, використовуючи в якості лігандів для рецепторів першого типу 3H -серотонин і 3H -спіперон для другого типу. Виявлено односпрямовані зміни показників – збільшення спорідненості до ліганду S_1 -рецепторів і числа місць зв'язування, і зниження спорідненості до ліганду S_2 -рецепторів на тлі зменшення числа місць зв'язування під впливом як ОР-40, так і ГдР. Глюкокортикоїдні рецептори другого типу і їхню кількість досліджували методом радіолігандного зв'язування з використанням синтетичного глюкокортикоїда - дексаметазона. Вплив речовин обумовлював підвищення числа глюкокортикоїдних рецепторів у тканині різних відділів головного мозку і печінки в 1,5 - 3,3 рази (порівняно з контролем), найбільш виражені зміни зареєстровані в стовбурі головного мозку під впливом ГдР. Виявлене збільшення кількості глюкокортикоїдних рецепторів другого типу, показників ймовірно, відбивало зміни клітинного метаболізму, викликані впливом речовин і спрямовані на підвищення стійкості організму до дії ксенобіотиків. Подібна динаміка може бути обумовлена напруженою гіпоталамо-гіпофізарно-наднирничкової системи, і в комплексі із стероїдними гормонами відігравати важливу роль у збереженні гомеостазу і підвищенні адаптаційних можливостей організму [3,8].

Висновки:

1. Вплив речовин обумовлював різноспрямовані зміни показників: зниження спорідненості до лігандів α_1 - і β - адренорецепторів у тканині головного мозку і підвищення її в печінці, що узгоджується зі зменшенням кількості місць рецепторного зв'язування, найбільш вираженому під впливом ОР-40.

2. Дія органічних сумішей на D_2 -дофамінові рецептори викликала зниження числа місць рецепторного зв'язування і зменшення спорідненості до ліганду в присутності ОР-40.

3. Під впливом ОР-40 і ГдР зареєстровані односпрямовані зміни показників – збільшення числа місць зв'язування і спорідненості до ліганду S_1 -рецепторів і зниження спорідненості до ліганду S_2 -рецепторів на тлі зменшення числа місць зв'язування.

4. У всіх випадках кількість глюкокортикоїдних рецепторів у тканині головного мозку і печінки вірогідно підвищувалася, найбільш виражені зміни визначали в стовбурі головного мозку під впливом ГдР.

Подальше дослідження регуляторних систем організму є перспективним в аспекті з'ясування механізмів адаптації і особливостей метаболізму в умовах тривалого впливу ксенобіотиків.

ПАРАМЕТРИ РЕЦЕПТОРНОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ ТА МЕДІАТОРНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ВПЛИВІ БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ ОРГАНІЧНИХ СУМІШЕЙ

О.В.Сіренко, Е.О.Кучеренко.

Установлена способность органических смесей на основе полиолов вызывать разнонаправленные изменения параметров рецепторного связывания и системы медиаторной регуляции внутриклеточного метаболизма. Зарегистрировано снижение сродства к лигандам, уменьшение количества мест рецепторного связывания и повышение числа глюкокортикоидных рецепторов в ткани головного мозга и печени крыс.

Ключевые слова: нейромедиаторы, рецепторное связывание, лиганды, метаболизм.

INFLUENCE OF COMPLEX ORGANIC MIXES ON THE BASIS OF POLIOLES ON RECEPTOR'S THE DEVICE OF WHITE RATS IN SUBAKUT EXPERIMENT

Ability of organic mixes on the basis of polyols is established to cause different changes of parameters receptor's linkages and systems of mediaeven regulation of an endocellular metabolism. Decrease in affinity to ligands, reduction of quantity of places receptor's linkages and increase of number glucocortikoid receptors in a fabric of a brain and a liver of rats is registered.

Key words: neurotransmitter, parameters of receptors linkages, ligandes, metabolism.

Список літератури

1. Громашевская Л.Л. Метаболическая интоксикация в патогенезе и диагностике патологических процессов //Лабораторная диагностика. – 2006. - №1(35). – С. 3-12.
2. Жуков В.И., Попова Л.Д. Влияние полиэтиленгликолей на процессы нейрогуморальной регуляции // Экспериментальная и клиническая медицина. - №4. – 2004. –С.12-19.
3. М'ясоєдов В.В., Жуков В.І., Гопкалов В.Г. та співавт. Моноамінергічні механізми потенційної судомної готовності головного мозку// Харків:Вид.ХДМУ, 2000. – 222 с.
4. Рахманин Ю.А., Новиков С.М., Румянцев Г.И. Методологические аспекты оценки риска для здоровья населения при кратковременных и хронических воздействиях химических веществ, загрязняющих окружающую среду // Гигиена и санитария. – 2002. - №6. – С. 5-7.
5. Peroutka S.J., Snyder S.N. Myltiple serotonin receptors: differential binding of ³H-5-hydroxytryptamine, ³H-lysergic acid diethylamide and ³H-spiperidol //Mol. Pharmacol, 1979. – Vol.16. – P.687-699.
6. U'Prichard D., Reisine t., Yamamura S. et al Differential super sensitivity of beta-receptor subtypes in rat cortex and cerebellum after central noradrenergic denervation // Life Sci., 1979. – V.26. – P.355-364.
7. Bylund D.B., Snyder S.H. beta-adrenergic receptor binding in membrane preparations from mammalian brain // Mol. Pharmac, 1979. – Vol.12. – P.568-580.

8. Dowell R.T., Atkins F.L., Love S. Beta-adrenergic receptors, adenilate cyclase activation and myofibril enzyme activity in hypothyroid rats //Am. J.Physiol, 1994. – V.266. - №6(2). – P.2527-2534.