

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ПЕЧІНЦІ ПРИ ВВЕДЕННІ БІСФЕНОЛУ А ЗА ВІДСУТНОСТІ ЗАПАСІВ РЕТИНОЇДІВ

В. Л. БОРЦОВЕЦЬКА, І. О. ШМАРАКОВ

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012
e-mail: igor.shmarakov@gmail.com*

Бісфенол А (ВРА) широко використовується як мономер у виробництві полікарбонатної продукції та виступає потенційним гепатотоксином in vivo. Молекулярні механізми токсичних ефектів ВРА, не пов'язані з порушенням функціонування ендокринної системи, залишаються не до кінця розкритими. Відомо, що введення ВРА супроводжується розвитком оксидативного стресу. Робота присвячена дослідженню активності ферментативної ланки антиоксидантної системи при введенні бісфенолу А за умов різної забезпеченості ретиноїдами. Оцінку ензиматичних активностей антиоксидантної системи проводили на основі визначення ферментативних активностей каталази, супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у мітохондріальній та цитозольній фракціях печінки. Результати проведених досліджень показали, що введення бісфенолу А тваринам дикого типу, з нормальним забезпеченням вітаміном А, супроводжувалось зниженням супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази активностей лише у цитозольній фракції, що перш за все пов'язано із особливостями метаболізму бісфенолу та локалізацією його біотрансформації. Водночас активність даних ферментів у мітохондріальній фракції не змінювалась та статистично-достовірно не відрізнялась від показників контрольної групи. На противагу цьому, у тварин, позбавлених ендогенно-депонованих ретиніл ефірів в печінці, активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази як у цитозольній, так і у мітохондріальній фракціях печінки знаходились на рівні показників контрольної групи, які не отримували бісфенол А.

Ключові слова: бісфенол А, ретиноїди, антиоксидантна системи, активні форми кисню

Вступ. В основі розвитку різноманітних патологічних станів лежить надмірна або незбалансована продукція активних форм кисню (АФК), до яких належать супероксидний і гідроксильний радикали та пероксид водню (Muriel and Gordillo, 2015). Інтенсивність процесів вільнорадикального окислення значною мірою залежить від активності ензимів антиоксидантного захисту, серед яких провідна роль відводиться ензимам супероксиддисмутази (SOD, EC 1.15.1.1), каталазі (CAT, EC 1.11.1.6) та глутатіонпероксидазі (GSHPx, EC 1.11.1.9) (Li et al., 2015).

Бісфенол А (ВРА, 2,2-біс (4-гіроксифеніл) пропан) широко використовується як мономер у виробництві полікарбонатних пластиків як складовий компонент епоксидних і полістирольних смол (Welshons et al., 2006). З огляду на постійний побутовий контакт людини з цим ксенобіотиком, опосередкований його вилуговуванням з ВРА-вмісної продукції, виникає потенційна небезпека хронічного впливу низьких доз ВРА на організм людини (Wang et al., 2014). Процеси детоксикації ВРА, локалізовані передусім в печінці, є джерелом утворення високореакційноздатних метаболітів

мета- чи *орто*-ОН-ВРА та їх хінонових форм, які володіють вираженими цитоксичними властивостями, обумовленими індукцією вільнорадикальних процесів (Xia et al., 2014).

Відомо, що ретиноїди виступають фактором, здатним визначати активність компонентів детоксикаційної системи та ефективність біотрансформації ксенобіотиків (Shmarakov, 2015). У зв'язку з цим доцільно дослідити активність елементів ферментативної ланки антиоксидантного захисту при введенні бісфенолу А за відсутності запасів ретиноїдів.

Мета роботи – оцінити активність ферментативної ланки антиоксидантної системи при введенні бісфенолу А в умовах відсутності печінкових запасів ретиноїдів.

Матеріали та методи досліджень. Досліди проводили на мишах лінії C57BL/6J (дикий тип, ДТ), віком 2,5-3 місяці, вагою 20-25 г. Утримання тварин та маніпуляції з ними проводили згідно з положеннями статті 26 Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних

етичних принципів експериментів на тваринах», затверджених 20.09.2001 Першим Українським національним конгресом з біоетики, та з урахуванням положень, викладених у *NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (Guide for ..., 2011).

Введення бісфенолу А, попередньо розчиненого в кукурудзяній олії (використаної у даному дослідженні як носій), проводили щоденно протягом 3 діб у дозі 50 мг/кг, що відповідає дозі *LOAEL* – найнижчій дозі, при якій спостерігається несприятливий ефект (від англ. *Lowest observable adverse effect level*) (NTP-CERHR Monograph, 2008).

Для дослідження активності основних ферментів антиоксидантної системи при введенні бісфенолу А за різної забезпеченості ретиноїдами в експерименті використано трансгенних мишей, позбавлених запасів ендогенно-депонованих ретиноїдів внаслідок нокауту гена лецитин:ретинолацилтрансферази, ЕС 2.3.1.135 (*Lrat^{-/-}*), фенотипові особливості цих тварин детально охарактеризовані у літературі (O'Byrne et al., 2005).

На початку експерименту тварин розділили на групи (по 5-6 тварин у кожній групі):

- група I (контрольна група I) – тварини дикої типу, яким вводили лише носій;
- група II (дослідна група I) – тварини дикої типу, яким перорально вводили 50 мг/кг ВРА;
- група III (контрольна група II) – тварини *Lrat^{-/-}*, яким вводили лише носій.
- група IV (дослідна група III) – тварини *Lrat^{-/-}*, яким перорально вводили 50 мг/кг ВРА.

Евтаназію тварин проводили під легким ефірним наркозом. Тварин зважували, видаляли печінку, яку використовували для подальшого аналізу. Оцінку активностей ферментів антиоксидантної системи здійснювали на 72 годину від початку експерименту.

Мітохондріальну фракцію отримували за методом описаним у (Kitagawa, 2008). Для цього паренхіму печінки гомогенізували в буфері, що містив 250 мМ сахарозу, 1 мМ EDTA, 10 мМ трис-НСІ, рН 7,4. Отриманий тканинний гомогенат фільтрували. Ядра та уламки клітин осаджували центрифугуванням при 700 г протягом 10 хв. Фракцію мітохондрій із супернатанту осаджували при 10000 g впродовж 10 хв. Отриманий осад двічі промивали середовищем виділення без EDTA.

До супернатанту, отриманого після осадження мітохондріальної фракції додавали іони Ca^{2+} та Mg^{2+} (до 9 об'ємів надосадової рідини – 1 об'єм 80 мМ розчину CaCl_2 та 1 об'єм 160 мМ розчину MgCl_2 у 10 мМ трис-НСІ буфері, рН 7,4). Проби

перемішували протягом 10 хв при 4°C, після чого центрифугували 15 хв при 9000 g. Отриманий супернатант використовували як цитозольну фракцію.

Визначення **супероксиддисмутазної** активності (SOD, ЕС 1.15.1.1) у субклітинних фракціях печінки проводили за методом (Сирота, 1999), який ґрунтується на здатності SOD інгібувати аутоокислення адреналіну. Для цього до 2,5 мл 0,2 М карбонатного буфера рН=10,65 додавали 0,01 мл відповідної фракції і та 0,1 мл 0,1 % розчину адреналіну, ретельно і швидко перемішували. Вимірювали величину абсорбції при довжині хвилі $\lambda=347$ нм проти 0,2 М карбонатного буфера, рН=10,65 кожні 60 с протягом 3 хв від моменту внесення адреналіну.

Супероксиддисмутазну активність, яку виражали в умовних одиницях на мг білка, розраховують за формулою:

$$A = \frac{Г\%}{100\% - Г\%} \times \frac{2N}{a}, \text{ де}$$

Г% - відсоток гальмування,

N – розведення,

a – концентрація білка в нерозведеному біологічному матеріалі.

Визначення **каталазної** активності (CAT, ЕС 1.11.16) проводили за методом (Goth, 1991), який ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс з максимумом поглинання при $\lambda=410$ нм. Для досліджень в дослідну і контрольну проби додавали по 2 мл 0,03 % розчину пероксиду водню, в дослідну – 0,1 мл відповідної субклітинної фракції печінки, в контрольну – 0,1 мл дистильованої води. Проби витримували при кімнатній температурі 10 хв, після чого в кожену пробу додавали по 1 мл 4 % розчину молібдату амонію і вимірювали абсорбцію при $\lambda=410$ нм проти 0,05 М трис-НСІ-буфера, рН=7,8. Результат розраховували за ступенем інгібування утворення кінцевих продуктів пероксидів молібдату. Каталазну активність виражали у ммоль/хв/мг протеїну.

Глутатіонпероксидазну активність (GSHPx, ЕС 1.11.1.9) визначали за методом (Paglia and Valentine, 1967). До складу реакційної суміші входили 1 мл 0,3 М фосфатного буфера рН 7,4; 12 мМ азид натрію; 6 мМ EDTA, 0,2 мл відповідної субклітинної фракції. Реакцію запускали додаванням 0,5 мл 1,8 мМ H_2O_2 та зупиняли через 2 хв додаванням 1 мл 10 % розчину трихлороцтової (ТХО) кислоти. Після центрифугування при 1000 g протягом 15 хв визначали абсорбцію окисленого глутатіону при $\lambda=260$ нм. Активність фермента виражали у ммоль/хв/мг протеїну.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми *Microsoft Excel*, використовуючи однофакторний дисперсійний аналіз (*one-way ANOVA*) з наступним застосуванням апостеріорного критерію Тьюкі (*Tukey's HSD post hoc test*). Вірогідними вважали відмінності між групами при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Інтенсивність утворення вільних радикалів у клітині строго контролюється широким набором ферментативних та неферментативних інструментів антиоксидантного захисту. До основних ензимів антиоксидантної системи належать супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидаза (Conti et al., 2016). SOD є першою лінією антиоксидантного захисту від АФК та єдиним ферментом, що каталізує дисмутацію супероксидного радикалу. Даний фермент існує в 2 ізоформах: цитозольній (Cu, Zn-вмісна) та мітохондріальній (Mn-вмісна) (Sheng, 2014), функціональне навантаження яких полягає у інактивації $O_2^{\cdot-}$, утвореного у результаті роботи мітохондріальної та мікосомальної електронтранспортних систем. У зв'язку із нездатністю даного вільного радикалу дифундувати на значні відстані та його короткий час напівжиття (10^{-6} с) виникає необхідність знешкодження $O_2^{\cdot-}$ у місцях його утворення. Основною та найбільш поширеною ізоформою виявляється цитозольна Cu, Zn-вмісна SOD. У нашому експерименті досліджено активність цитозольної та мітохондріальної ізоформ SOD.

Встановлено, що у тварин обох генотипів переважаючою виявлялась активність цитозольної ізоформи SOD, показник якої в середньому на 25% був вищим за аналогічний показник у мітохондріальній фракції, що узгоджується із даними літератури (Culotta et al., 2006) (Рис. 1.).

При веденні ВРА тваринам із нормальною забезпеченістю ретиноїдами зафіксовано зниження SOD активності, але лише у цитозольній фракції, показник якої знижувався у 2,75 разів порівняно із тваринами, яким не вводили ксенобіотик (Рис. 1А.). Водночас активність даного фермента у мітохондріальній фракції не змінювалась та статистично достовірно не відрізнялась від показників контрольної групи (Рис. 1Б.).

Отримані результати імовірно пов'язані із особливостями метаболізму бісфенолу А. Відомо, що даний ксенобіотик в результаті мікосомального окислення метаболізується до токсичних вільнорадикальних метаболітів – *орто*-, та *мета*-ВРА, які здатні індукувати вільнорадикальні процеси у клітині (Schmidt et al., 2013). Вільнорадикальне пошкодження клітинних компартментів призводить до посиленого утворення $O_2^{\cdot-}$, основним джерелом яких виступає робота мікосомальних монооксигеназ та ксантинооксидази, який підлягає дисмутації під дією SOD до пероксиду водню та молекулярного кисню (Sheng et al., 2014).

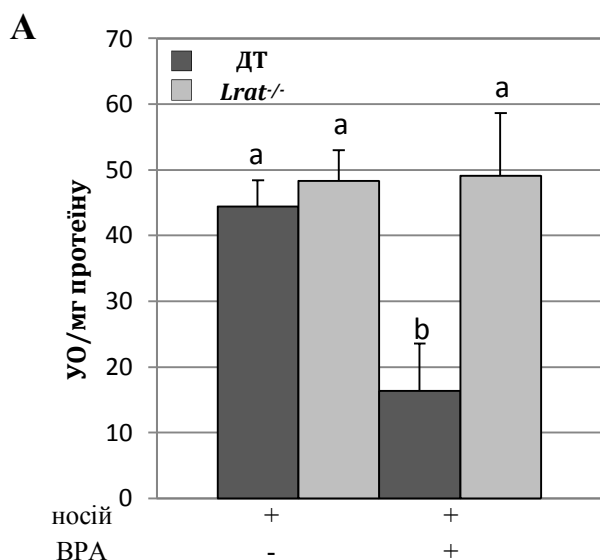


Рис. 1. Супероксиддисмутазна активність у цитозольній (А) та мітохондріальній (Б) фракціях печінки мишей

Примітка: величини позначені різними буквеними індексами (a, b, c) статистично достовірно відрізняються, $P < 0,05$; носій – кукурудзяна олія, ВРА – бісфенол А.

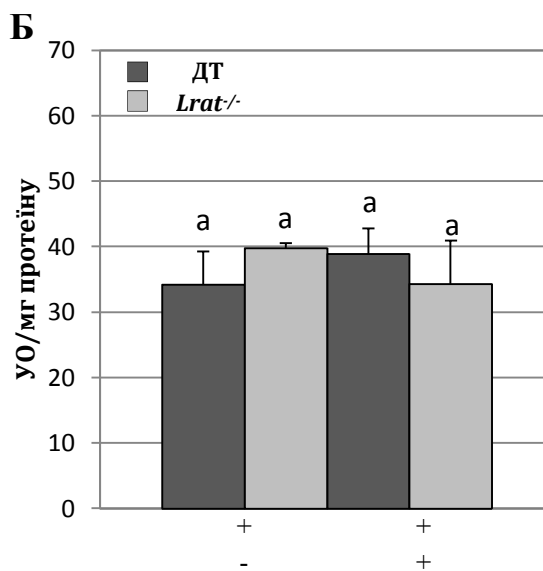


Fig. 1. Superoxide dismutase activity in liver cytosolic (A) and mitochondrial (B) fraction of mice

Note: values are indicated by different letter index (a, b, c) statistically significant difference, $P \leq 0,05$, vechine – corn oil, ВРА – bisphenol A.

Одночасно накопичення пероксиду водню, як продукту реакції, призводитиме до інгібування активності супероксиддисмутази (Милякова и Шабанов, 2006).

Тотожні результати отримано щодо показників активностей каталази у цитозольній та мітохондріальній фракціях печінки (Рис. 2.). Зокрема активність даного ферменту також знижувалась лише у цитозольній фракції, на 46 %, в той час як у мітохондріальній фракції даний показник не змінювався та статистично достовірно не відрізнявся від показника активності САТ у тварин, які не отримували ВРА. Біологічна роль цього гем-вмісного ензиму полягає в деградації пероксиду водню, що утворюється у клітинах в результаті каталітичного циклу цитохрому Р450, дисмутації супероксиду під дією SOD, до молекулярного кисню та води (Нес et al., 2015).

Утворені $O_2^{\cdot -}$ та H_2O_2 індукують процеси пероксидації в клітині, основна роль у знешкодженні яких належить глутатіонпероксидазі. Важливість даного Se-вмісного ензиму полягає у забезпеченні інактивації не лише пероксиду водню, але й гідропероксидів ліпідів за участі відновленого глутатіону, до якого фермент виявляє високу специфічність (Michiels et al., 1994). Основним місцем локалізації GSHPx виявляється цитозольна фракція (до 70%), в мітохондріальній фракції

знаходиться приблизно 20-30% GSHPx. З цим узгоджуються зафіксовані у нашому експерименті переважаючі показники активності GSHPx у тварин контрольної групи у цитозольній фракції, які вищі в середньому на 62% порівняно із активністю даного ензиму у мітохондріальній фракції (Рис. 3.). При введенні ВРА нами зафіксовано зниження активності глутатіонпероксидази у цитозольній фракції на 26 %, в той час як у мітохондріальній фракції даний показник не змінювався та статистично достовірно не відрізнявся від показника активності GSHPx у тварин, які не отримували ВРА (Рис. 3.).

Враховуючи те, що основні процеси детоксикації бісфенолу А відбуваються у ендоплазматичному ретикуліумі печінки, основною мішенню пошкоджуючого впливу високореакційноздатних метаболітів ВРА виступають компоненти саме цитозольної фракції, в тому числі і антиоксидантні ферменти. У зв'язку з цим цілком очевидним виявляється встановлене нами зниження ензиматичних активностей саме у цитозольній фракції печінки.

Водночас, у тварин, позбавлених ендогенно-депонованих ретиніл ефірів в печінці, активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази як у цитозольній, так і у мітохондріальній фракціях печінки знаходились на рівні показників контрольної групи.

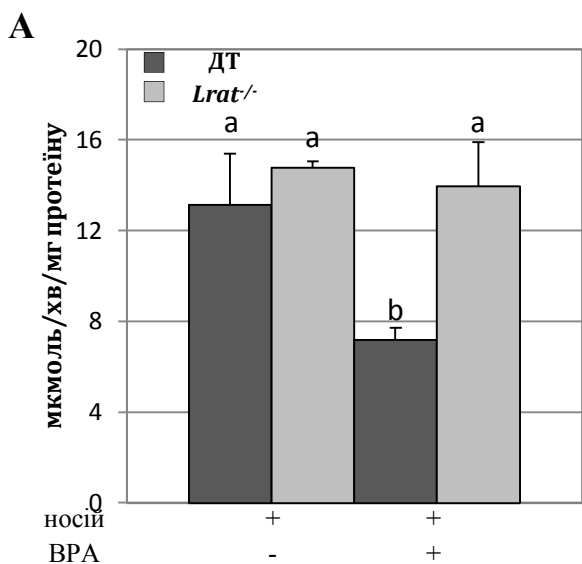


Рис. 2. Каталазна активність у цитозольній (А) та мітохондріальній (Б) фракціях печінки мишей

Примітка: величини позначені різними буквеними індексами (a, b, c) статистично достовірно відрізняються, $P < 0,05$; носій – кукурудзяна олія, ВРА – бісфенол А.

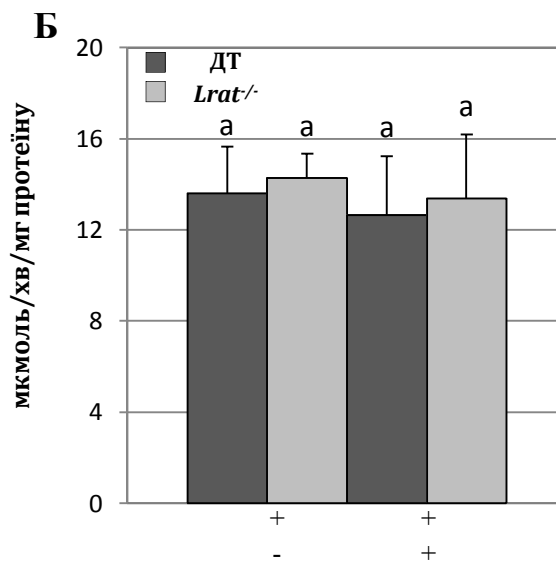


Fig. 2. Catalase activity in liver cytosolic (A) and mitochondrial (B) fraction of mice

Note: values are indicated by different letter index (a, b, c) statistically significant difference, $P \leq 0,05$, vechine – corn oil, ВРА – bisphenol A.

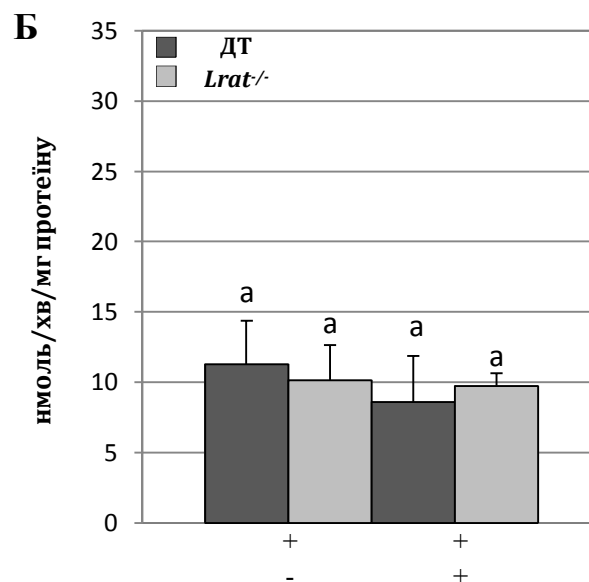
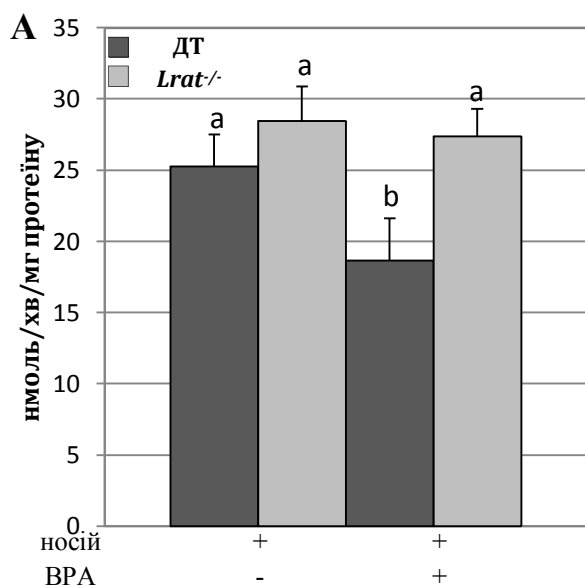


Рис. 3. Глутатіонпероксидазна активність у цитозольній (А) та мітохондріальній (Б) фракціях печінки мишей

Примітка: величини позначені різними буквеними індексами (a, b, c) статистично достовірно відрізняються, $P < 0,05$; носій – кукурудзяна олія, ВРА – бісфенол А.

Fig. 3. Glutathione peroxidase activity in liver cytosolic (A) and mitochondrial (B) fraction of mice

Note: values are indicated by different letter index (a, b, c) statistically significant difference, $P \leq 0,05$, vechine – corn oil, ВРА – bisphenol A.

Враховуючи залежність роботи детоксикаційної системи печінки від наявності ретиноїдів, відсутність запасів ендogenous-депонованих ретиніл-ефірів зумовлює низьку активність ферментів біотрансформації, що зумовлюватиме низьку інтенсивність утворення цитотоксичних метаболітів ВРА. Очевидно у тварин даної групи недостатність печінкових запасів ретиноїдів забезпечувала відсутність вільнорадикальних процесів у субклітинних фракціях печінки, про що у нашому експерименті свідчить незмінність показників активностей основних ферментів антиоксидантної системи.

Отримані результати підтверджуються дослідженнями Hassan et al. (Hassan et al., 2012), якими встановлено, що ВРА може викликати окисдаивний стрес, порушуючи окислювально-відновний статус в клітинах печінки. Зокрема показано, що введення тваринам 50 мг/кг бісфенолу індукує не лише зниження основних ферментативних активностей антиоксидантної системи – GSPx, SOD, CAT, але й призводить до зниження експресії мРНК генів GSHPx та CAT (Hassan et al., 2012).

Подібні результати отримані дослідженнями Bindhumol et al. (Bindhumol et al., 2003), де показано, що введення ВРА індукує розвиток оксидативного стресу шляхом зниження активності антиоксидантних ферментів та зростання пероксидного окислення ліпідів. Авторами

показано, що вже при введенні 20 мг/кг ВРА фіксується значне зниження активностей основних ферментативних активностей антиоксидантної системи (CAT, GSHPx, SOD) як у мікосомальній та мітохондріальній фракціях печінки.

Водночас у дослідженнях Kabuto et al. (Kabuto et al., 2002) зафіксовано зниження CAT та GSHPx активностей у печінці внаслідок введення тваринам 50 мг/кг. При цьому одночасно у цих експериментах встановлено зростання SOD активності. Отримані результати автори пояснили індукцією даним ксенобіотиком гіперпродукції саме перексиду водню у печінці.

Отже, нами встановлено, що введення ВРА тваринам із нормальною забезпеченістю ретиноїдами не супроводжується змінами активностей основних ферментів антиоксидантної системи у мітохондріальній фракції, а основні зміни стосуються активностей ферментів у цитозольній фракції. Високі ферментативні активності антиоксидантної системи в умовах відсутності запасів ендogenous-депонованих ретиноїдів зумовлюють відсутність вільнорадикальних процесів.

Список літератури:

1. Bindhumol V. Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats / V. Bindhumol, K. C. Chitra, P. P. Mathur // Toxicology. – 2003. – Vol. 8. – P. 117-124.

2. Conti V. Antioxidant Supplementation in the Treatment of Aging-Associated Diseases / V. Conti, V. Izzo, G. Corbi [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 7, № 24. – P. 1-24.
3. Culottav V. C. Activation of superoxide dismutases: Putting the metal to the pedal / V. C. Culotta, M. Yanga, T. V. O'Halloran // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – Vol. 1763, № 7. – P. 747–758.
4. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range / L. Goth // *Clinica Chimica Acta.* – 1991. – Vol. 196, № 2-3. – P. 143–151.
5. Guide for the care and use of laboratory animals. – Washington D. C.: National Academies Press, 2011. – 246 p.
6. Hassan Z. K. Bisphenol A Induces Hepatotoxicity through Oxidative Stress in Rat Model / Z. K. Hassan, M. A. Elobeid, P. Virk [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-6.
7. Heck D. E. Mechanisms of oxidant generation by catalase / D. E. Heck, M. Shakarjian, H. D. Kim [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 1203. – P. 120-125.
8. Kabuto H. Effects of bisphenol A on the metabolisms of active oxygen species in mouse tissues / H. Kabuto, S. Hasuike, N. Minagawa, T. Shishibori // *Environmental Research.* – 2003. – Vol. 93. – P. 31–35.
9. Kitagawa Y. Estimation of the in vivo translational activity of rat liver mitochondria without use of an antibiotic / Y. Kitagawa, E. Sugimoto // *Biochem. Journal.* – 1980. – Vol. 88, № 3. – P. 689-893.
10. Li S. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases / S. Li, H. Y. Tan, N. Wang [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16. – P. 26087-26124.
11. Michiels C. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress / C. Michiels, M. Raes, O. Toussaint, J. Remacle // *Free Radic. Biol. Med.* – 1994. – Vol. 17, № 3. – P. 235-248.
12. Muriel P. Role of Oxidative Stress in Liver Health and Disease / P. Muriel, K. R. Gordillo // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-2.
13. NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Bisphenol A.: NIH Publication, 2008. – 599 p.
14. O'Byrne S. M. Retinoid absorption and storage is impaired in mice lacking lecithin:retinol acyltransferase (LRAT) / S. M. O'Byrne, N. Wongsiriroj, J. Libien [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 35647–35657.
15. Paglia D. E. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. / D. E. Paglia, W. N. Valentine // *J. Lab. Clin. Med.* – 1967. – Vol. 70. – P. 158-169.
16. Schmidt J. Bioactivation of bisphenol A and its analogs (BPF, BPAF, BPZ and DMBPA) in human liver microsomes / J. Schmidt, P. Kotnik, J. Trontelj // *Toxicol. In Vitro.* – 2013. – Vol. 27. – P. 1267-1276.
17. Sheng Y. Superoxide Dismutases and Superoxide Reductases / Y. Sheng, I. A. Abreu, D. E. Cabelli [et al.] // *Chem. Rev.* – 2014. – Vol. 114. – P. 3854–3918.
18. Shmarakov I. O. Retinoid-xenobiotic interactions: the Ying and the Yang / I. O. Shmarakov // *HepatoBiliary Surg. Nutr.* – 2015. – Vol. 4, № 4. – P. 229-242.
19. Wang W. Adsorption of Bisphenol A to a Carbon Nanotube Reduced Its Endocrine Disrupting Effect in Mice Male Offspring / W. Wang, C. Jiang, L. Zhu [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – Vol. 15. – P. 15981-15993.
20. Welshons W. V. Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure / W. V. Welshons, S. C. Nagel, F. S. Saal // *Endocrinology.* – 2006. – Vol. 147, № 6. – P. S56-S69.
21. Xia W. Early-Life Exposure to Bisphenol A Induces Liver Injury in Rats Involvement of Mitochondria-Mediated Apoptosis / W. Xia, Y. Jiang, Y. Li [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 2. – P. e90443.
22. Милякова М. Н. Возможный механизм и патофизиологическая значимость регуляции активности супероксиддисмутазы свободными радикалами кислорода / М. Н. Милякова, В. В. Шабанов // *Биомедицинская химия.* – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 130-137.
23. Сирота Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т. В. Сирота // *Вопросы мед. химии.* – 1999. – № 3. – С. 1-10.

References:

1. Bindhumol V. Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats / V. Bindhumol, K. C. Chitra, P. P. Mathur // *Toxicology.* – 2003. – Vol. 8. – P. 117-124.
2. Conti V. Antioxidant Supplementation in the Treatment of Aging-Associated Diseases / V. Conti, V. Izzo, G. Corbi [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 7, № 24. – P. 1-24.
3. Culottav V. C. Activation of superoxide dismutases: Putting the metal to the pedal / V. C. Culotta, M. Yanga, T. V. O'Halloran // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – Vol. 1763, № 7. – P. 747–758.
4. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range / L. Goth // *Clinica Chimica Acta.* – 1991. – Vol. 196, № 2-3. – P. 143-151.
5. Guide for the care and use of laboratory animals. – Washington D. C.: National Academies Press, 2011. – 246 p.
6. Hassan Z. K. Bisphenol A Induces Hepatotoxicity through Oxidative Stress in Rat Model / Z. K. Hassan, M. A. Elobeid, P. Virk [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-6.
7. Heck D. E. Mechanisms of oxidant generation by catalase / D. E. Heck, M. Shakarjian, H. D. Kim [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 1203. P. 120–125.
8. Kabuto H. Effects of bisphenol A on the metabolisms of active oxygen species in mouse tissues / H. Kabuto, S. Hasuike, N. Minagawa, T. Shishibori // *Environmental Research.* – 2003. – Vol. 93. – P. 31–35.

9. Kitagawa Y. Estimation of the in vivo translational activity of rat liver mitochondria without use of an antibiotic / Y. Kitagawa, E. Sugimoto // *Biochem. Journal.* – 1980. – Vol. 88, № 3. – P. 689-893.
10. Li S. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases / S. Li, H. Y. Tan, N. Wang [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16. – P. 26087-26124.
11. Michiels C. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress / C. Michiels, M. Raes, O. Toussaint, J. Remacle // *Free Radic. Biol. Med.* – 1994. – Vol. 17, № 3. – P. 235-248.
12. Milyakova M. N. Possible Mechanism and pathophysiological significance of the regulation of the activity of superoxide free radicals of oxygen / MN Milyakova, VV Shabanov // *Biomedical Chemistry.* – 2006. – Vol. 52, № 2. – P. 130-137.
13. Muriel P. Role of Oxidative Stress in Liver Health and Disease / P. Muriel, K. R. Gordillo // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-2.
14. NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Bisphenol A.: NIH Publication, 2008. – 599 p.
15. O'Byrne S. M. Retinoid absorption and storage is impaired in mice lacking lecithin:retinol acyltransferase (LRAT) / S. M. O'Byrne, N. Wongsiriroj, J. Libien [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 35647-35657.
16. Paglia D. E. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. / D. E. Paglia, W. N. Valentine // *J. Lab. Clin. Med.* – 1967. – Vol. 70. – P. 158-169.
17. Schmidt J. Bioactivation of bisphenol A and its analogs (BPF, BPAF, BPZ and DMBPA) in human liver microsomes / J. Schmidt, P. Kotnik, J. Trontelj // *Toxicol. In Vitro.* – 2013. – Vol. 27. – P. 1267-1276.
18. Sirota T. New approach in the study of adrenaline auto-oxidation process and use it to measure the activity of superoxide dismutase / T. Sirota // *Problems of Medical Chemistry.* – 1999. – № 3. – P. 1-10.
19. Sheng Y. Superoxide Dismutases and Superoxide Reductases / Y. Sheng, I. A. Abreu, D. E. Cabelli [et al.] // *Chem. Rev.* – 2014. – Vol. 114. – P. 3854-3918.
20. Shmarakov I. O. Retinoid-xenobiotic interactions: the Ying and the Yang / I. O. Shmarakov // *HepatoBiliary Surg. Nutr.* – 2015. – Vol. 4, № 4. – P. 229-242.
21. Wang W. Adsorption of Bisphenol A to a Carbon Nanotube Reduced Its Endocrine Disrupting Effect in Mice Male Offspring / W. Wang, C. Jiang, L. Zhu [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – Vol. 15. – P. 15981-15993.
22. Welshons W. V. Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure / W. V. Welshons, S. C. Nagel, F. S. Saal // *Endocrinology.* 2006. – Vol. 147, № 6. – P. S56-S69.
23. Xia W. Early-Life Exposure to Bisphenol A Induces Liver Injury in Rats Involvement of Mitochondria-Mediated Apoptosis / W. Xia, Y. Jiang, Y. Li [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 2. – P. e90443.

ACTIVITY OF HEPATIC ANTIOXIDANT SYSTEM UNDER BISPHENOL ADMINISTRATION WITH NO RESERVE OF RETINOIDS

V. L. Borschovetska, I. O. Shmarakov

Bisphenol A (BPA) is the potential hepatotoxin and widely used as a monomer in the production of BPA-containing polycarbonate products. Its classic xenoestrogen toxic effects are well-described, the molecular mechanisms of bisphenol A-induced hepatotoxicity are not completely characterized and need to be further studied. It is known that introduction of BPA is accompanied by development of oxidative stress. The work is aimed to assess enzyme activity of hepatic antioxidant system under administration of bisphenol A and differential supplementation with retinoids. The estimation of enzyme activity of the antioxidant system was conducted on the basis of determination of enzyme activity of catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in mitochondrial and cytosolic fractions of liver. It is demonstrated that administration of bisphenol A wild-type animals, with normal supplementation of vitamin A accompanied by the decline activity of catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase only in cytosolic fractions of live. It is primarily related to the features of metabolism of bisphenol and localization of its biotransformation. However, the activity of these enzymes in the mitochondrial fraction unchanged and statistically not significantly different from that of the control group. In contrast, in animals deprived of endogenously-deposited retinyl esters in the liver, superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase both cytosolic and mitochondrial fractions of liver were level indicators in the control group who did not receive bisphenol A.

Key words: bisphenol A, retinoids, antioxidant system, reactive oxygen species

Отримано реколегією 27.12.2015