

# PROOXIDATIVE SHIFT IN TOXIC ACTION OF TCDD

**Krechetov S.P., Rembowski V.R., Gerashenko V.M.**

State Enterprise Research Institute of Hygiene, Pathology and Hyman Ecology, Russian Federation

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD, dioxin) is most toxic among chlorinated dibenzo-p-dioxins and harmful pollutant of the environment. Its action on mammals appears in wide spectrum of biochemical changes, including enzymes induction (cytochrome P-450-containing mixed function oxidase (MFO), DT-diaphorase,  $\delta$ -aminolevulinic acid synthetase, UDP-glucuronil transferase, glutathione-S-transferase), abnormalities in lipid and carbohydrate metabolisms. Among causes of irreversible cell damage under TCDD intoxication lipid peroxidation (LP) to be of most interest. On the one hand, intensification of LP really takes place after TCDD administration. On the other hand, after TCDD administration most intensive biochemical changes are observed in system of cytochrome P-450, functioning of which and connecting with its cytochrome P-450 reductase are accompanied by reactive forms of oxygen (ROS) production. But yet role of MFO functional changes in observed LP intensification remain unclear.

For fuller understanding of pathobiochemical action mechanism of TCDD we investigate influence of TCDD in median lethal like doses on LP, cytochrome P-450-containing MFO, metabolism of ROS and glutathione metabolism in liver of laboratory mammals of different species (mice, rats, guinea pigs, rabbits). TCDD treatment of experimental animals induce in liver oxidative stress, manifested in increasing of ROS formation and LP intensity. Comparison of TCDD initiated changes in LP, ROS formation, cytochrome P-450-containing MFO parameters and antioxidant enzymes activities in mammals allows to suppose, that basis of observed prooxidative changes is dioxin ability for prolonged uncoupling of the oxygenase catalytic cycle and decreasing of peroxidase activity of cytochrome P-450. Decreasing of peroxidase activity of cytochrome may be considered as suppression of very important factor in antioxidant protection of endoplasmic reticulum membranes. These findings show leading role of cytochrome P-450 related prooxidant and antioxidant factors imbalance in TCDD toxic action and allow to suppose involving this factors in formation of species susceptibility differences to this xenobiotic.

From worded above, cytochrome P-450 induction is not only regulatory mechanism of adaptation of cellular metabolism to changes in levels of endogenous substrates and products of cytochrome P-450-containing MFO. At the same time it should be considered as way of increasing of antioxidant protection in microsomal membranes in case of high level ROS formation by cytochrome P-450-containing MFO. In contrast to TCDD, another methylxanthine similar inducers undergo intensive biotransformation, therefore imbalance in cytochrome P-450 related prooxidant and antioxidant factors after such inducer administration is short time. As result these xenobiotics have less toxicity and after treatment with them LP may become lower in microsomes and microsomes show more stability in prooxidant conditions.

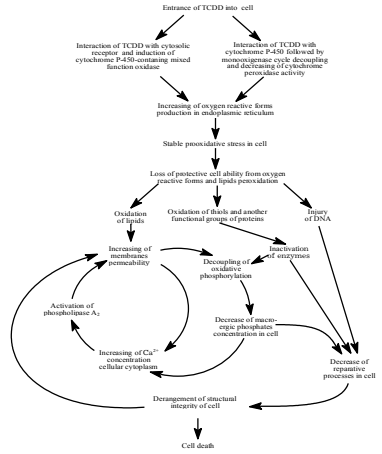


Fig.6. Pathobiochemical mechanism of TCDD toxic action

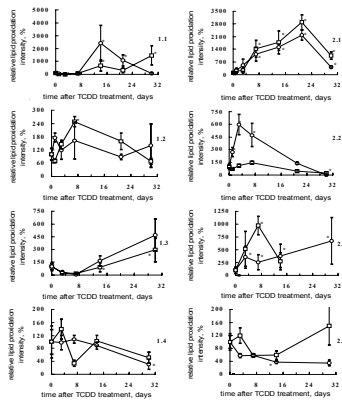


Fig.1. Lipid peroxidation in mammalian liver after TCDD treatment. □ - ascorbat depending lipid peroxidation, ○ - NADPH depending lipid peroxidation. 1\* - guinea pig, 2\* - rat, 3\* - mice, 4\* - mouse. Data presented as mean  $\pm$  standard error divided by mean in control. Asterisk mark significant difference from control ( $P < 0.05$ )

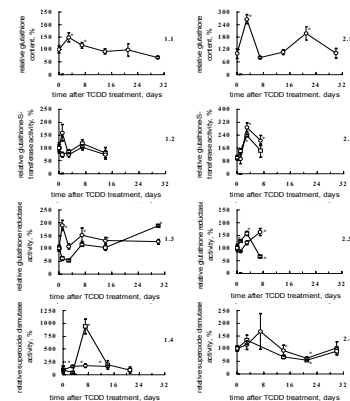


Fig.4. Antioxidant factors in mammalian liver after TCDD treatment. □ - ascorbat depending lipid peroxidation, ○ - NADPH depending lipid peroxidation. 1\* - guinea pig, 2\* - rat, 3\* - mice, 4\* - mouse. Data presented as mean  $\pm$  standard error divided by mean in control. Asterisk mark significant difference from control ( $P < 0.05$ )

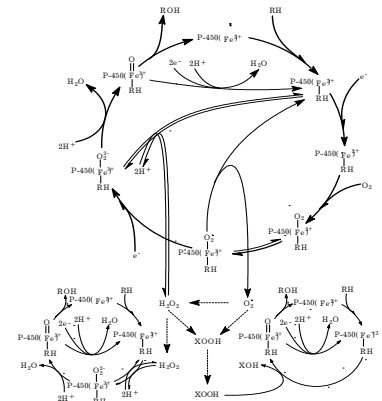


Fig.7. Cytochrome P-450-containing mixed function oxidase functioning in presence of oxidizable substrate - RH.

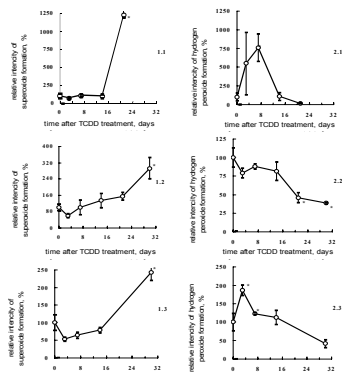


Fig.2. Reactive oxygen species formation in mammalian liver microsomes after TCDD treatment. 1\* - guinea pig, 2\* - rat, 3\* - mouse. Data presentation is described under fig.1.

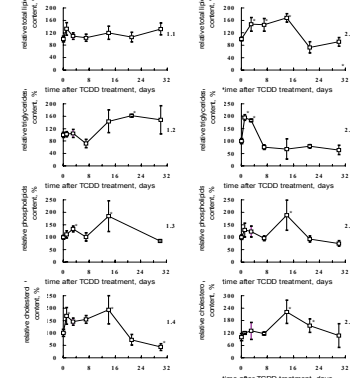


Fig.5. Lipid parameters in mammalian serum after TCDD treatment. 1\* - guinea pig, 2\* - rat. Data presentation is described under fig.1.

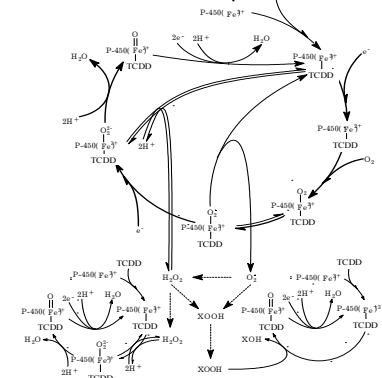


Fig.8. Cytochrome P-450-containing mixed function oxidase functioning in presence of non oxidizable substrate - TCDD.

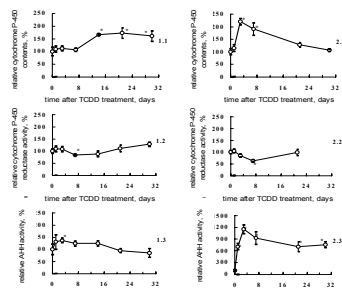


Fig.3. Cytochrome P-450-containing mixed function oxidase parameters after TCDD treatment. 1\* - guinea pig, 2\* - rat. Data presentation is described under fig.1.

## ПРООКСИДАНТНЫЙ СДВИГ В МЕХАНИЗМЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ТХДД

**Креchetov S.P., Rembowski V.R., Gerashenko V.M.**

ФГУП НИИГПЭЧ, Ленинградская обл., Россия

2,3,7,8-тетрахлордифенил-р-диоксин (ТХДД, диксин) является наиболее токсичным представителем полигалогенированных дифенил-р-диоксинов и опасным загрязнителем окружающей среды. Его действие на организм млекопитающих характеризуется широким спектром биохимических проявлений, включающих индукцию ряда ферментов (цитохром P-450-содержащей оксидазы со смешанными функциями (ОСФ), DT-диафоразы, синтазы  $\delta$ -аминолевулиновой кислоты, УДФ-глюкуронилтрансферазы, сульфатил-S-трансферазы), изменение показателей липидного и углеводного обмена. Среди причин необратимого повреждения клетки при интоксикации ТХДД наибольший интерес представляют нарушения, обусловленные интенсификацией перекисного окисления липидов (ПОЛ). С одной стороны, интенсификация этого процесса действительно отмечается при введении ТХДД. С другой стороны, наиболее выраженный биохимический сдвиг в организме происходит в системе цитохрома P-450, функционирование которого, так же, как и связанной с ним НАДФ-Н-цитохром P-450-редуктазы, сопровождается генерацией супероксиданиона и переноса водорода - активных форм кислорода (АФК), способных инициировать ПОЛ. Однако роль указанной монооксиданты в наблюдаемых прооксидантных изменениях остается неясной.

С целью дальнейшего уточнения патобioхимического механизма действия ТХДД исследовано влияние его воздействия в дозах, близких к среднесмертельным, на протекание перекисного окисления липидов, состояние цитохром P-450-содержащей ОСФ, обмен активных форм кислорода и глутатиона в печени лабораторных млекопитающих разных видов. Показано, что окислительный стресс, сопровождающийся увеличением образования АФК и нитрогенсодержащей ПОЛ, действительно выступает как основное патогенетическое звено в индукции необратимых патобioхимических изменений, имеющих место при отравлении ТХДД. Сопоставление экспериментальных данных о динамике вызываемых ТХДД изменений ПОЛ, образования АФК, параметров P-450-содержащей ОСФ и активности антиоксидантных ферментов во внутренних органах лабораторных млекопитающих позволяет предположить, что причиной наблюдаемого прооксидантного сдвига является способность ТХДД, как практически не окисляемого субстрата, к разобщению монооксидантного цикла и снижению перекисной активности цитохрома P-450. Последнее особенно важно, поскольку опущает подавление диксином важнейшего антиоксидантного фактора в мембранах эндоплазматического ретикулума (ЭПР). Полученные данные указывают на увеличение указанных биохимических процессов не только в патогенез поражения, но и, возможно, в формировании различий по чувствительности к ТХДД.

В свете изложенного индукция цитохрома P-450 выступает не просто как эволюционно сформировавшийся механизм оптимизации клеточного метаболизма при усилении окислительной нагрузки в организме субстратов цитохром P-450-содержащей ОСФ, но и как способ повышения уровня антиоксидантной защиты в условиях повышенного образования АФК, которое может сопровождать функционирование данной монооксиданты. В отличие от ТХДД другие менее токсичные индукторы метаболизма ретикулума способны индуцировать окислительный стресс, поэтому при их попадании в организм нарушение обмена АФК, если имеет место, но не носит продолжительный характер, а в последующем, как следствие увеличения содержания свободного цитохрома P-450, даже наблюдается понижение интенсивности ПОЛ в мембранах ЭПР и их более высокая устойчивость к прооксидантным воздействиям.