

Liver steatosis and inhibition of mitochondrial oxidative phosphorylation after experimental simazine feeding

Vancova O, Ulicna O, Horecky J, Zeljenkova D, Wimmerova S, Trnovec T

Steatóza pečene a poruchy oxidačnej fosforylácie mitochondrií po aplikácii simazínu v experimente

Abstract

Vancova O, Ulicna O, Horecky J, Zeljenkova D, Wimmerova S, Trnovec T:

Liver steatosis and inhibition of mitochondrial oxidative phosphorylation after experimental simazine feeding
Bratisl Lek Listy 2000; 101 (8): 423–428

Background: Triazine herbicides are widely used in extensive agricultural production, however, some ecological and health hazards occur due to water and food contamination.

Aim: The aim of this study was to evaluate the effects of long-term simazine feeding on the steatosis development and the changes of liver bioenergetics in experimental animals.

Methods: A population of B6C3F1 mice were fed with simazine (2g and 4 g/kg/day, respectively) for 35 weeks. The concentration of cholesterol and triacylglycerols were measured in liver tissue. Liver mitochondria were isolated and parameters of oxidative phosphorylation were assessed polarographically using Clark oxygen electrode with NAD glutamate and/or FAD succinate as substrates.

Results: Significant changes ($p < 0.001$) expressed as medians (with confidence intervals) against control animals were found in both experimental groups after simazine feeding. The concentration of triacylglycerols increased from 10.3 (8.8–10.9) to 20.1 (18.0–20.9) and 47.7 (23.8–56.0), respectively. The parameters of oxidative phosphorylation with NAD substrate glutamate decreased as follows: The index of respiratory control from 7.7 (6.4–9.0) to 4.8 (4.0–6.3) resp. 4.4 (3.9–4.6); the rate of oxygen consumption in the state 3 (with ADP) from 84.2 (82.0–92.3) to 65.4 (50.8–70.7) resp. 69.9 (65.0–78.4) $\text{nAtO.mg.prot}^{-1}.\text{min}^{-1}$; and phosphorylation rate from 215.3 (204.4–232.2) to 166.3 (120.4–193.6) resp. 169.6 (155.3–176.9) $\text{nmolATP.mg.prot}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Comparable changes were detected in oxidative phosphorylation with FAD succinate as substrate.

Abstrakt

Vančová O., Uličná O., Horecký J., Zeljenková D., Wimmerová S., Trnovec T.:

Steatóza pečene a poruchy oxidačnej fosforylácie mitochondrií po aplikácii simazínu v experimente
Bratisl. lek. Listy, 101, 2000, č. 8, s. 423–428

Pozadie problému: Popri nesporne pozitívnej úlohe triazínových herbicidov v rozvoji poľnohospodárskej výroby sa stali dôležitým ekologickým faktorom kontaminácie pôdy a vody. Tieto látky môžu poškodzovať pečeň.

Ciel: Cieľom bolo zistiť, či dlhodobá expozícia simazínom vyvolá steatózu pečene a či dôjde k narušeniu jej bioenergetiky.

Metódy: Pokusným myšiam kmeňa B6C3F1 sme podávali stravu s obsahom technického simazínu v dávke 2 g/kg/deň alebo 4 g/kg/deň. Po 35 týždňoch kŕmenia sme v pečevom tkanive určili koncentráciu cholesterolu a triacylglycerolov. Po izolácii mitochondrií sme merali parametre oxidačnej fosforylácie polarograficky pomocou Clarkovej kyslíkovej elektródy.

Výsledky: Významné zmeny ($p < 0,001$) vyjadrené v mediánoch s konfidenčnými intervalmi sme oproti kontrole zistili v oboch pokusných skupinách po podávaní simazínu (2 g, resp. 4 g/kg/deň): zvýšila sa koncentrácia triacylglycerolov v pečeni, z 10,3 (8,8–10,9) na 20,1 (18,9–20,9), resp. 47,7 (23,8–56,0) mmol/kg . Z parametrov oxidačnej fosforylácie sa znížili index respiračnej kontroly (RCI) z 7,5 (6,4–9,0) na 4,8 (4,0–6,3), resp. 4,4 (3,9–4,6), rýchlosť spotreby kyslíka v stave 3 v prítomnosti ADP z 84,3 (82,0–92,3) na 65,4 (50,8–70,7), resp. 69,9 (65,0–78,4) $\text{nAtO.mg.prot}^{-1}.\text{min}^{-1}$ a fosforylačná rýchlosť z 215,3 (204,4–232,2) na 166,3 (120,4–193,6), resp. 169,6 (155,3–176,9) $\text{nmolATP.mg.prot}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Podobné hodnoty sa zistili pri FAD substráte jantarane.

Záver: Dlhodobé podávanie simazínu vyvolalo steatózu pečene. Napriek zníženiu bioenergetiky pečevových mitochondrií bola

Laboratory of Pharmacobiochemistry, IIIrd Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava. bl@fmed.uniba.sk

Institute of Preventive and Clinical Medicine, Bratislava
Address for correspondence: O. Vancova, Ing, Laboratory of Pharmacobiochemistry, IIIrd Dpt of Internal Medicine, Hlboka 7, SK-811 05 Bratislava 1, Slovakia.
Phone: +421.7.5249 6974

Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave a Ústav preventívnej a klinickej medicíny v Bratislave

Adresa: Ing. O. Vančová, Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky LFUK, Hlboká 7, 811 05 Bratislava 1.

Conclusions: Liver steatosis development and mitochondrial energetics inhibition were determined in mice after long-term simazine feeding, nevertheless, liver energy production was sufficient to satisfy the liver function and the needs of the whole organism. (Tab. 4, Fig. 6, Ref. 24.)

Key words: simazine, liver, mitochondria, oxidative phosphorylation, steatosis.

Simazín (2-chlór-4,6-bis(etylamín)-s-triazín) zo skupiny chlór-triazinových herbicidov sa používa v poľnohospodárstve na ničenie burín. Účinkuje tak, že selektívne tlmí fotosyntézu rastlín (Stevens a Sumner, 1991). Chemicky je relatívne stabilný, počas rozpadu v pôde a podzemnej vode je priemerne 60 dní. Môže kontaminovať povrchovú aj pitnú vodu (Frank a Logan, 1988). Reziduá simazínu a jeho derivátu 2-chlór-4-etylamín-6-amín-1,3,5-triazínu sa zistili nielen v pitnej vode, ale aj v potravinách (Balinova, 1993; Molinari a spol., 1995).

Akútna orálna LD50 simazínu je pre hlodavcov viac ako 5 g/kg (Ben-Dyke a spol., 1970). Do organizmu sa dostáva okrem zažívacieho traktu aj dýchaním. Intoxikácia simazínom vyvoláva u hlodavcov poruchu chôdze, triašku, kŕče, ochrnutie, cyanózu, spomalené a nepravidelné dýchanie a poruchy funkcie nadobličiek (Stevens a Sumner, 1991). Testy na zvieratách ukázali poškodenie pečene, obličiek, štítnej žľazy a tvorby spermií (Stevens a Sumner, 1991). Intratracheálna kontaminácia poškodzuje obranné mechanizmy dýchacích ciest znížením fagocytovanej aktivity alveolárnych makrofágov (Horecký a spol., 1996).

U ľudí sa pri výrobe, distribúcii alebo aplikácii simazínu v poľnohospodárstve vyskytujú kontaktné dermatitídy (Elizarov, 1972; Stevens a Sumner, 1991). V USA zistili u žien zvýšený výskyt rakoviny prsníka (Kettles a spol., 1997), retardáciu intrauterinného vývoja a predčasné pôrody (Munger, 1997) v tých oblastiach, kde bola pitná voda kontaminovaná simazínom.

Simazín sa biotransformuje N-demetyláciou pomocou cytochrómu P-450 v mikrozómovom systéme pečene. Dlhodobým podávaním sa jeho biotransformačná kapacita znižuje (Adams a spol., 1990; Lang a spol., 1996; Hanioka a spol., 1998, 1999). Po biotransformácii v pečeni sa 60–70 % simazínu vylúči močom, 5–10 % sa hromadí v erytrocytoch, kostiach, tukovom tkanive, v pečeni a obličkách. Zvyšok sa vylúči stolicou (Bakke a spol., 1972).

Pretože prebieha biodegradácia simazínu hlavne v pečeni, zvýšená expozícia alebo intoxikácia touto látkou zasahuje do jej ho-

tvorba energie po podávaní simazínu dostatočná na udržanie funkcií pečene. (Tab. 4, obr. 6, lit. 24.)

Kľúčové slová: simazín, pečeň, mitochondrie, oxidačná fosforylácia, steatóza.

meostázy a môže vyvolať patologické zmeny. Naším cieľom bolo zistiť, či sa tieto zmeny prejavia vznikom steatózy pečene a či dôjde k narušeniu bioenergetiky mitochondrií.

Materiál a metódy

V pokusoch sme použili myši kmeňa B6C3F1 (Taconic, Inc., Germantown, New York, USA). Myši sme umiestnili v samostatných boxoch vo zverinci s automatickým 12-hodinovým striedaním cyklu svetlo/tma. Teplota vzduchu bola 22 °C a relatívna vlhkosť 50–70 %. Zvieratá mali voľný prístup k vode a k dávkovanej potrave. Kontrolné (zdravé) zvieratá sme kŕmili zmesou ST-1 Bergman pre myši a potkany (fa Bergman, Jesenice u Prahy, ČR). Pokusným zvieratám sme túto stravu miešali s technickým simazínom s čistotou 98 % (Ciba Geigy Corp. Greensboro, North Carolina, USA). Strava bola peletovaná do štandardnej formy a sterilizovaná 20 minút pri 120 °C. Vzorky krmiva sa kontrolovali na mikrobiologickú čistotu.

Zvieratá sme rozdelili do troch skupín: 1. kontrolná skupina — zdravé zvieratá, 2. pokusná skupina — zvieratá, ktorým sa podávala strava so simazínom v dávke 2 g/kg/deň, 3. pokusná skupina — zvieratá, ktorým sa podávala strava so simazínom v dávke 4 g/kg/deň. Hmotnosť zvierat je v tabuľke 1.

Podávanie simazínu trvalo 35 týždňov so 100 % prežívaním. Po skončení pokusu sme pečeň vybrali v halotanovej anestézii do vychladeného izolačného média (4 °C). Médium obsahovalo 225 mmol/l manitolu, 75 mmol/l sacharózy, 0,2 mmol/l EDTA; pH roztoku sme upravili na 7,4 (Palmer a spol., 1977).

Izolácia mitochondrií: Tkanivo pečene sme homogenizovali v súprave teflón-sklo za stáleho chladenia pri 4 °C. Pripravili sme 10 % homogenát, z ktorého sme po opakovanom odstredení v chladenej centrifúge Janetzki K 24 izolovali mitochondrie (Hoegboom, 1955). Po izolácii sme mitochondrie resuspendovali tak, aby obsah bielkovín bol 4–6 mg v 0,1 ml suspenzie. Množstvo mitochondriálnych bielkovín sme určili podľa Lowryho a spol. (1951).

Parametre oxidačnej fosforylácie sme merali na oxygrafe Gilson 5/6 H polarograficky, pomocou Clarkovej kyslíkovej elektródy. Inkubačné médium obsahovalo 10 mmol/l HEPES, 5 mmol/l KH_2PO_4 , 120 mmol/l KCl, 0,5 mmol/l EDTA, 2 g/l dextranu; pH roztoku sme upravili na 7,2 (Rouslin a Millard, 1980). Mitochondrie oxidovali NAD-substrát glutamát sodný alebo FAD-substrát jantaran sodný/rotenon s výslednou koncentráciou 5 mmol/l. Na stimuláciu dýchania sme pridávali 500 nmolov ADP.

Malé množstvo pečeneového tkaniva (približne 100 mg) sme použili na určenie koncentrácie cholesterolu (Bálint, 1962) a triacylglycerolov (Jover, 1963).

Na štatistické vyhodnotenie výsledkov sme použili neparametrický Kruskalov—Wallisov test. Po dokázanom štatisticky výz-

Tab. 1. Body weight of control and experimental mice. Tab. 1. Hmotnosť kontrolných a pokusných myší.

	Štatistické ukazovatele	Kontrola	Simazín	Simazín
	Statistical parameters	Control	Simazine	Simazine
			2g/kg.deň	4g/kg.deň
			2g/kg.day ⁻¹	4g/kg.day ⁻¹
Hmotnosť zvierat	n	19	16	10
Body weight (g)	m	37	33,6	28,83
	±SEM	5,70	6,70	4,40

Vysvetlivky/Legend: n – počet/number, m – aritmetický priemer/arithmetic mean, ±SEM – stredná chyba priemeru/standard error of mean.

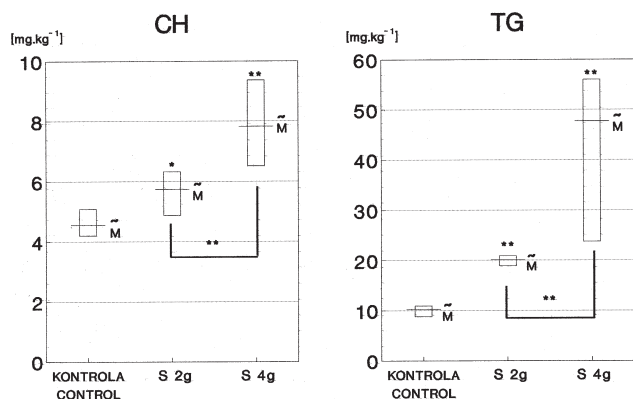


Fig. 1. Concentration of cholesterol and triacylglycerols in the liver in control and experimental mice.

Obr. 1. Koncentrácia cholesterolu a triacylglycerolov v pečeni u kontrolných a pokusných myší.

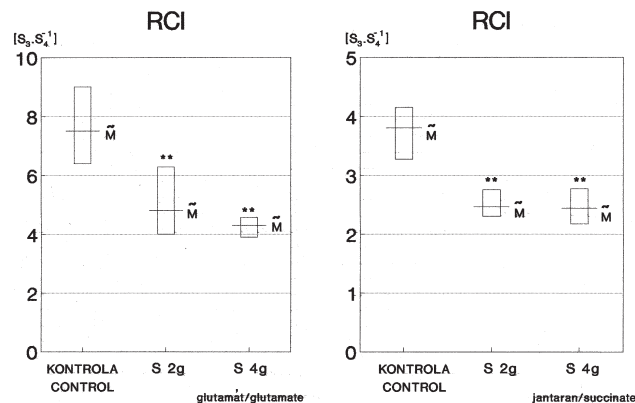


Fig. 2. Respiration control index in liver mitochondria in control and experimental mice.

Obr. 2. Respiračný kontrolný index v pečňových mitochondriách u kontrolných a pokusných myší.

namnom rozdieli medzi porovnávanými skupinami sme ďalej použili Wilcoxonov test. Určili sme, medzi ktorými skupinami sú významné rozdiely pri 95 % hladine spoľahlivosti.

Výsledky

V pečeni zvierat oboch pokusných skupín sme zistili výrazne zvýšenú koncentráciu triacylglycerolov a cholesterolu (tab. 2, obr. 1). Vyššie hodnoty týchto ukazovateľov sa dosiahli pri vyššej dávke simazínu. Podávanie simazínu v dávke 4 g/kg/deň viedlo ku vzniku steatózy pečene.

Dlhodobé podávanie simazínu ovplyvnilo bioenergetiku pečňových mitochondrií v oboch sledovaných pokusných skupinách pri NAD-substráte glutamáte aj FAD-substráte jantarane (tab. 3, 4). Významne klesol index respiračnej kontroly (RCI), ktorý je mierou integrity mitochondrií (obr. 2), rýchlosť spotreby kyslíka pri stimulovanom dýchaní s ADP v stave 3 [$QO_2(S_3)$]

(obr. 4) a fosforylačná rýchlosť (OPR) (obr. 6). Rýchlosť spotreby kyslíka počas pokojového dýchania bez prítomnosti ADP v stave 4 [$QO_2(S_4)$] (obr. 5) sa významne zvýšila v skupine s dávkou simazínu 4 g/kg oproti kontrolnej skupine aj oproti skupine s dávkou 2 g/kg, ak mitochondrie oxidovali glutamát sodný. Pri substráte jantaranu sa rýchlosť spotreby kyslíka v stave 4 [$QO_2(S_4)$] v jednotlivých skupinách nemenila (obr. 5). Hodnoty koeficientu oxidačnej fosforylácie (ADP:O) sa v sledovaných skupinách nemenili (obr. 3).

Diskusia

Chemické príčiny vzniku chorobných procesov rastú s rozvojom civilizačného procesu. Populácia je čoraz viac vystavovaná vplyvu chemických látok a zlúčenín, ktoré sa vyrábajú a používajú v praktickom živote, alebo sa stávajú súčasťou životného prostredia. Mnohé z nich majú toxické účinky a môžu ohrozovať zdra-

Tab. 2. Concentration of cholesterol and triacylglycerols in the liver 35 weeks after administration of simazine.
Tab. 2. Koncentrácia cholesterolu a triacylglycerolov v pečeni po 35-týždňovom podávaní simazínu.

Statistical parameters	Štatistické ukazovatele	Kontrola	Simazín 2g/kg/deň	Simazín 4g/kg/deň	KW p<	Wilcoxon test
		Control	Simazine 2g/kg.day ⁻¹	Simazine 4g/kg.day ⁻¹		Wilcoxon test p<
Cholesterol pečň/liver	n	9	9	12	0,001	K:S2g 0,01
	M	4,56	5,74	7,83		K:S4g 0,001
	CI	4,20-5,09	4,87-6,32	6,51-9,37		S2g:S4g 0,001
Triacylglycerols	n	9	9	12	0,001	K:S2g 0,001
	M	10,31	20,13	47,69		K:S4g 0,001
	CI	8,84-10,93	18,91-20,90	23,76-56,01		S2g:S4g 0,001

Vysvetlivky/Legend: n – počet členov súboru/number, M – medián/median, CI – 95 % konfidenčný interval, 95 % confidence interval, KW – Kruskal–Wallisov test, Kruskal–Wallis test, p – významnosť/significance, K – kontrola/control, S2g – simazín v dávke 2g/kg/deň, – simazine 2g/kg.day⁻¹, S4g – simazín v dávke 4g/kg/deň, – simazine 4g/kg.day⁻¹.

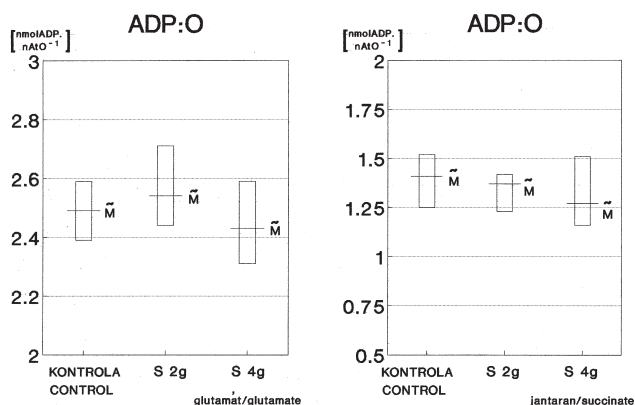


Fig. 3. Coefficient of oxidative phosphorylation in liver mitochondria in control and experimental mice.
Obr. 3. Koefficient oxidáčnej fosforylácie v pečeneých mitochondriách u kontrolných a pokusných myší.

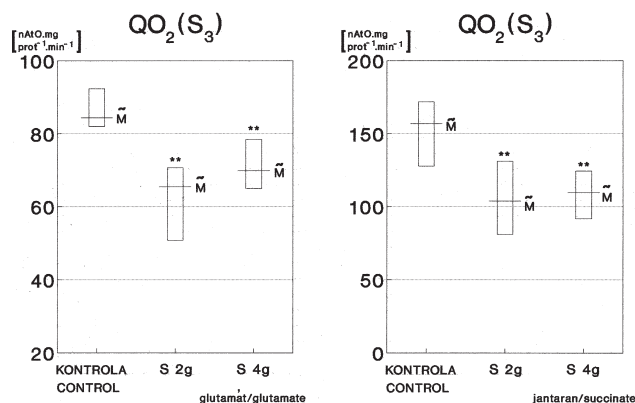


Fig. 4. Rate of oxygen uptake by mitochondria stimulated with ADP (state 3) in liver mitochondria in control and experimental mice.
Obr. 4. Rýchlosť spotreby kyslíka mitochondriami pri stimulovaní s ADP (Stav 3) v pečeneých mitochondriách u kontrolných a pokusných myší.

vie ľudí. Preto je potrebné študovať a poznať rôzne aspekty vplyvu xenobiót na organizmus.

Náš pokus ukázal, že simazín podobne ako iné hepatotoxické látky vyvolá hromadenie triacylglycerolov v pečenej bunke — steatózu pečene (Brixová, 1981; Uličná a spol., 1988, 1989). Stupeň tukovej infiltračie pečene možno kvantifikovať určením koncentrácie triacylglycerolov v pečeni. Koncentrácia

triacylglycerolov pri steatóze pečene u potkanov dosahuje hodnoty 22 mmol/kg, u ľudí nad 45 mmol/kg (Brixová, 1981). V našich pokusoch sa po dlhodobom podávaní nižšej dávky simazínu (2 g/kg/deň) významne zvýšila koncentrácia triacylglycerolov v pečeni a dosiahla hranicu, ktorú už môžeme považovať za steatózu pečene. Pri vyššej dávke 4 g/kg/deň bola steatóza pečene výrazná.

Tab. 3. Oxidative phosphorylation in liver mitochondria 35 weeks after administration of simazine (substrate sodium glutamate).
Tab. 3. Oxidačná fosforylácia v mitochondriách pečene po 35-týždňovom podávaní simazínu (substrát glutamát sodný).

Substrát-glutamát Substrate glutamate	Štatistické ukazovatele Statistical parameters	Kontrola Control	Simazín 2g/kg/deň Simazine 2g/kg.day ⁻¹	Simazín 4g/kg/deň Simazine 4g/kg.day ⁻¹	KW p<	Wilcoxonov test Wilcoxon test p<
RCI (S ₃ , S ₄ ⁻¹)	n	14	16	16	0,001	K:S2g 0,001
	M	7,50	4,78	4,26		K:S4g 0,001
	CI	6,40-9,00	4,00-6,29	3,90-4,57		S2g:S4g n.s.
ADP:O (nmolADP.nAtO ⁻¹)	n	14	16	16	n.s.	qK:S2g n.s.
	M	2,49	2,54	2,43		K:S4g n.s.
	CI	2,39-2,59	2,44-2,71	2,31-2,59		S2g:S4g n.s.
QO ₂ (S ₃) (nAtO.mg.prot ⁻¹ .min ⁻¹)	n	14	16	16	0,001	K:S2g 0,001
	M	84,33	65,44	69,86		K:S4g 0,001
	CI	82,01-92,26	50,82-70,66	64,97-78,41		S2g:S4g n.s.
QO ₂ (S ₄) (nAtO.mg.prot ⁻¹ .min ⁻¹)	n	14	16	16	0,001	K:S2g n.s.
	M	11,24	12,62	16,71		K:S4g 0,001
	CI	9,01-13,99	10,61-14,15	15,76-17,55		S2g:S4g 0,001
OPR (nmolATP.mg.prot ⁻¹ .min ⁻¹)	n	14	16	16	0,001	K:S2g 0,001
	M	215,33	166,31	169,58		K:S4g 0,001
	CI	204,41-232,20	120,43-193,55	155,34-176,89		S2g:S4g n.s.

Vysvetlivky/Legend: n — počet členov súboru/ number, M — medián/ median, CI — 95 % konfidenčný interval, 95 % confidence interval, KW — Kruskal—Wallisov test, Kruskal—Wallis test, p — významnosť/significance, RCI — respiračný kontrolný index, respiration control index, ADP:O — koefficient oxidáčnej fosforylácie, coefficient of oxidative phosphorylation, QO₂(S₃) — rýchlosť spotreby kyslíka mitochondriami pri stimulovaní s ADP (stav 3), rate of oxygen uptake by mitochondria stimulated with ADP (state 3), QO₂(S₄) — rýchlosť spotreby kyslíka v kludovom stave (stav 4), rate of basal oxygen uptake by mitochondria (state 4), OPR — fosforylačná rýchlosť, oxidative phosphorylation rate, K — kontrola/control, S2g — simazín v dávke 2g/kg/deň, — simazine 2g/kg.day⁻¹, S4g — simazín v dávke 4g/kg/deň, — simazine 4g/kg.day⁻¹.

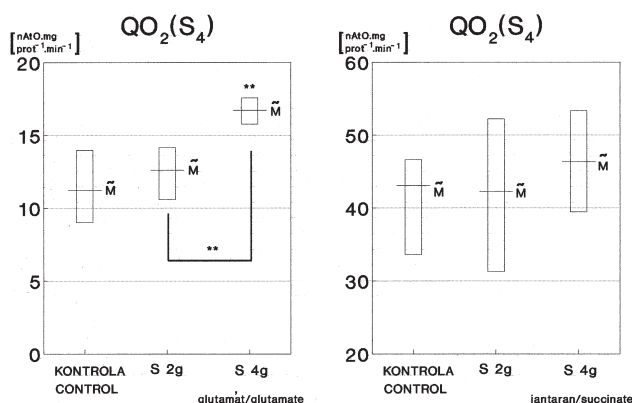


Fig. 5. Rate of basal oxygen uptake by mitochondria (state 4) in liver mitochondria in control and experimental mice.

Obr. 5. Rýchlosť spotreby kyslíka v pokojovom stave (stav 4) v pečenných mitochondriách u kontrolných a pokusných myší.

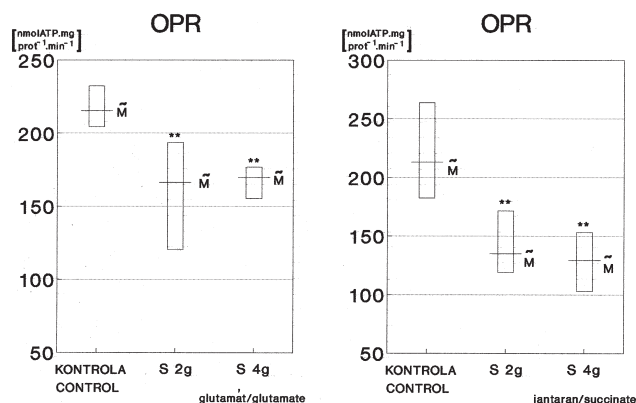


Fig. 6. Oxidative phosphorylation rate in liver mitochondria in control and experimental mice.

Obr. 6. Fosforylačná rýchlosť v pečenných mitochondriách u kontrolných a pokusných myší.

Toxické poškodenie pečene často interferuje s poruchou tvorby energie. Ukázalo sa, že po dlhodobom podávaní simazínu došlo k významnému narušeniu bioenergetiky pečenných mitochondrií. Narušila sa integrita mitochondrií, o čom svedčí znížený index respiračnej kontroly. Významné je najmä zníženie spotreby kyslíka v stave 3. Stav 3 vyjadruje rýchlosť spotreby kyslíka v prítomnosti mitochondrií, substrátu (v našom prípade NAD-substrátu glutamátu alebo FAD-substrátu jantaranu sodného), anorganického fosfátu a ADP. Rýchlosť, akou mitochondrie spotrebúvajú kyslík, je citlivým ukazovateľom funkcie reťazca transportu elek-

trónov. V súlade so zníženou kapacitou dýchacieho reťazca poklesla aj rýchlosť tvorby ATP (fosforylačná rýchlosť) v mitochondriách, ktoré sme izolovali z pečene myší křímených stravou s obsahom simazínu pri NAD-substráte glutamáte aj FAD-substráte jantaranu. Kvantitatívne spojenie tvorby ATP s transportom elektrónov odráža pomer ADP:O. Po podávaní simazínu sme nenašli zmeny v indexe ADP:O, čo poukazuje na to, že k odpojeniu oxidácie od fosforylácie nedošlo. Tvorba energie v mitochondriách pečene po podávaní simazínu bola znížená, ale stačila na udržanie funkcie pečene. Dostatočná tvorba energie vo forme ATP je po-

Tab. 4. Oxidative phosphorylation in liver mitochondria 35 weeks after administration of simazine (substrate natrium succinate).

Tab. 4. Oxidačná fosforylácia v mitochondriách pečene po 35-týždňovom podávaní simazínu (substrát jantaran sodný).

Substrát-jantarán	Štatistické ukazovatele	Kontrola	Simazín 2g/kg/deň	Simazín 4g/kg/deň	KW	Wilcoxonov test
Substrate succinate	Statistical parameters	Control	Simazine 2g/kg.day ⁻¹	Simazine 4g/kg.day ⁻¹	p<	Wilcoxon test p<
RCI (S ₃ ,S ₄ ⁻¹)	n	14	16	11	0,001	K:S2g 0,001
	M	3,80	2,46	2,44		K:S4g 0,001
	CI	3,27-4,15	2,30-2,75	2,17-2,77		S2g:S4g n.s.
ADP:O (nmolADP.nAtO ⁻¹)	n	14	16	11	n.s.	K:S2g n.s.
	M	1,41	1,35	1,27		K:S4g n.s.
	CI	1,25-1,52	1,23-1,42	1,16-1,51		S2g:S4g n.s.
QO ₂ (S ₃) (nAtO.mg prot ⁻¹ .min ⁻¹)	n	14	16	11	0,001	K:S2g 0,001
	M	156,87	103,83	109,61		K:S4g 0,001
	CI	127,76-171,80	80,99-131,07	91,85-124,29		S2g:S4g n.s.
QO ₂ (S ₄) (nAtO.mg prot ⁻¹ .min ⁻¹)	n	14	16	11	n.s.	K:S2g n.s.
	M	43,08	42,27	46,33		K:S4g n.s.
	CI	33,62-46,65	31,28-52,20	39,48-53,31		S2g:S4g n.s.
OPR (nmolATP.mg prot ⁻¹ .min ⁻¹)	n	14	16	11	0,001	K:S2g 0,001
	M	213,00	134,76	129,19		K:S4g 0,001
	CI	182,37-263,70	119,05-171,43	102,95-152,99		S2g:S4g n.s.

Vysvetlivky pozri v tabuľke 3.

Legend see in Table 3.

trebná pre zabezpečenie endergonických reakcií a udržanie aktívneho transportu v membránových systémoch.

Biotransformácia xenobiotík vrátane liečiv, ktorá sa uskutočňuje pomocou cytochrómu P450, je vo všeobecnosti spojená s tvorbou voľných radikálov. Radikálové poškodenie by mohlo byť spoločným mechanizmom poškodenia rôznymi xenobiotikami, ktoré sa líšia svojou chemickou štruktúrou aj primárnym mechanizmom účinku.

Vznik steatózy môžeme považovať za príznak toxického poškodenia pečene. Za závažné považujeme zistenie, že došlo k zníženiu oxidačnej fosforylácie v mitochondriách pečene. Znížená rýchlosť tvorby ATP môže mať za následok zníženie metabolickej kapacity pečene.*

Literatúra

- Adams N.H., Levi P.E., Hodgson E.:** In vitro studies of the metabolism of atrazine, simazine and terbutryne in several vertebrate species. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1990, s. 1411–1417.
- Bakke J.E., Larson J.D., Price C.E.:** Metabolism of atrazine and 2-hydroxyatrazine by the rat. *J. Agric. Food Chem.*, 20, 1972, s. 602–607.
- Balinova A.:** Solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatographic analysis for monitoring herbicides in drinking water. *J. Chromatogr.*, 643, 1993, s. 203–207.
- Bálint P.:** Klinikai laboratóriumi diagnostika. Budapest, Egészségügyi Kiadó 1962, 599 s.
- Ben-Dyke R., Sanderson D.M., Noakes D.N.:** Acute toxicity data for pesticides. *World Rev. Pest Control*, 9, 1970, s. 119–127.
- Brixová E.:** Problém steatózy pečene v experimente a klinike. *Folia Fac. Med. Univ. Comen. Bratislava*, 19, 1981, č. 2, s. 9–90.
- Elizarov G.P.:** Occupational skin diseases caused by simazine and propazine (Russ.). *Vestn. Derm. Venerol.*, 46, 1972, s. 27–29.
- Frank R., Logan L.:** Pesticide and polychlorinated biphenyl residues in waters at the mouth of the Grand, Saugeen and Thames rivers, Ontario, Canada, 1986–1990. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 17, 1988, s. 741–754.
- Hanioka N., Jinno H., Tanaka-Kagawa T., Nishimura T., Ando M.:** Changes in rat liver cytochrome P450 enzymes by atrazine and simazine treatment. *Xenobiotica*, 28, 1998, č. 7, s. 683–698.
- Hanioka N., Jinno H., Tanaka-Kagawa T., Nishimura T., Ando M.:** In vitro metabolism of chlorotriazines: Characterization of simazine, atrazine, and propazine metabolism using liver microsomes from rats treated with various cytochrome P450 inducers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 156, 1999, s. 195–205.
- Hogeboom G.H.:** Fractionation of cell components of animal tissues. S. 16–18. In Colowick S.P., Kaplan N.O. (Eds.): *Methods in enzymology*. New York, Academic Press INC., Publishers 1955.
- Horecký J., Hurbánková M., Veningerová M., Dubovská D., Kaiglová A., Trnovec T.:** Toxicokinetics of atrazine and changes of some BAL-parameters after intratracheal instillation in rats. In: *Aerosols in Diagnostics, Therapy, and Prophylaxis and Cardio-Respiratory Relations*. International Symposium. Štrbské Pleso, 1996, s. 25.
- Jover A.:** Technique for the determination of serum glycerides. *J. Lipid. Res.*, 4, 1963, s. 228–230.
- Kettles M.A., Browning S.R., Prince T.I.:** Triazine herbicides exposure and breast cancer incidence. An ecologic study of Kentucky counties. *Environm Health Persp.*, 105, 1997, s. 1222–1227.
- Lang D., Criegee D., Grothusen A., Saalfrank R.W., Böcker R.H.:** In vitro metabolism of atrazine, terbutylazine, ametryne, and terbutryne in rats, pigs, and humans. *Drug. Metab. Dispos.*, 24, 1996, s. 859–865.
- Lowry H.O., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.:** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 1951, s. 265–270.
- Molinari G.P., Fontana G., Carrara G.:** Evaluation of herbicide migration from water to gorgonzola and mozzarella cheeses in industrial processing. *Food Addit. Contam.*, 12, 1995, s. 195–201.
- Munger R.:** Intrauterine growth retardation in Iowa communities with herbicide-contaminated drinking water supplies. *Environm. Health Persp.*, 105, 1997, s. 308–314.
- OECD:** Guidelines for the Testing of Chemicals No. 453. OECD, Paris, 1993.
- Palmer J.W., Tandler B., Hoppler L.C.:** Biochemical properties sub-sarcolemal and interfibrillar mitochondria isolated from cardiac muscle. *J. Biol. Chem.*, 252, 1977, s. 8731–8739.
- Rouslin W., Millard R.W.:** Canine myocardial ischemia. Defect in mitochondrial electron transfer complex. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 12, 1980, s. 639–645.
- Stevens J.T., Sumner D.D.:** Herbicides, s.1317–1508. In: Hayes W.J., Laws E.R. (Eds.): *Handbook of Pesticide Toxicology*, Acad Press, New York, Vol. 3, 1991.
- Uličná O., Bátora I., Kubalová V.:** Hepatoprotektívny efekt silymarínu pri toxickom experimentálnom poškodení pečene phosmetom. *Čs. Gastroenterol.*, 42, 1988, č. 7, s. 445–451.
- Uličná O., Kubalová V., Bátora I., Volmut J., Brixová E.:** Toxické poškodenie pečene a možnosť jeho ovplyvnenia silymarínom. *Biochem. clin. bohemoslovac.*, 18, 1989, č. 4, s. 313–322.

Received November 10, 1999.

Accepted June 8, 2000

*Technická spolupráca: L. Butašová a E. Eftimová
Grant č. 1/5158/98

V priebehu celého obdobia boli dodržané smernice OECD pre testovanie chemických látok na zvieratách (OECD, 1993).