

ISPITIVANJE AKTIVNOSTI ENZIMA ANTIOKSIDATIVNOG SISTEMA U SUBHRONIČNOJ INTOKSIKACIJI 2-BUTOKSIETANOLOM KOD MIŠEVA BALB/c SOJA

Ljubiša MIHAJLOVIĆ, Nevenka K. MIHAJLOVIĆ,
Aleksandar PETROVIĆ i Živojin STANKOVIĆ

*Institut za biologiju sa humanom genetikom i Institut za histologiju
i embriologiju Medicinskog fakulteta u Nišu*

Ispitivan je efekat 2-butoksietanola (2-BE), organskog rastvarača iz grupe eter-glikola na aktivnost enzima antioksidativnog sistema u jetri miševa Balb/c soja. Životinje su desetodnevno tretirane peroralno u dozi od 500 mg/kg. Analizirani su morfometrijski parametri (relativna masa slezine i jetre), koncentracija proteina (metoda Lowry), aktivnost mitohondrijalne (mangan) superoksid dismutaze (MnSOD) i citozolne (bakar-cink) superoksid dismutaze (CuZnSOD) (metoda Misra i Fridovich) i aktivnost katalaze (metoda Beutler-a). U grupi životinja tretiranih 2-butoksietanolom registrovana je splenomegalija koja ukazuje na ekstrapomedularnu hematopoezu, kao i smanjena aktivnost enzima antioksidativnog sistema. Smanjena aktivnost katalaze i CuZnSOD u jetri nije statistički značajna u odnosu na kontrolnu grupu. Međutim, aktivnost MnSOD je statistički značajno smanjena u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,01$). Smanjena aktivnost enzima antioksidativnog sistema ukazuje na povećanu produkciju slobodnih radikala. Naši rezultati sugerišu da se jedan od mogućih mehanizama patogenetskih oštećenja u intoksikaciji 2-butoksietanolom zasniva na oksidativnom stresu.

Ključne reči: 2-butoksietanol, oksidativni stres, superoksid dismutaza, katalaza

Uvod

Etri etilen-glikola, kao organski rastvarači, prvi put su uvedeni u komercijalne proizvode krajem 1920-ih. To su tečnosti blagog mirisa rastvorljive u vodi, slabo isparljive, sa širokom primenom u hemijskoj industriji kao razređivači nitroceluloze, lakova, boja, emajla i sredstava za hemijsko ciscenje. Takođe, oni se koriste u prehrambenoj, štamparskoj, rudarskoj, drvno-prerađivačkoj i elektronskoj industriji i u nekim komercijalnim proizvodima, poput kozmetičkih preparata i tečnih sredstava za ciscenje u domaćinstvu

(*McGregor*, 1984). Interesovanje za eter-glikole je povećano od momenta otkrivanja njihovog efekta na gonade i kostnu srž (*Miller i sar.*, 1981; *Nagano i sar.*, 1984; *Dodd i sar.*, 1983). Kod ljudi je utvrđena reverzibilna aplastična anemija nakon slučajnih izlaganja eter-glikolima (*Parsons i Parsons*, 1983; *Ohi i Wegman*, 1978; *Beutler*, 1975). 2-butoksietanol (etilen glukol monobutil eter) je jedan od najzastupljenijih eter-glikola i pokazuje visoku hemotoksičnost nakon peroralne, inhalacione ili dermalne primene (*Sabourin i sar.*, 1992). Najvažniji hematološki efekat 2-BE je anemija hemolitičkog tipa praćena smanjenjem broja eritrocita, hemoglobina, hematokrita i nešto manjim brojem retikulocita. Hemolitička anemija izaziva ekstrapomedularnu hematopoezu, retikulocitozu i hiperplaziju kostne srži i slezine (*Grant i sar.*, 1985). 2-BE pokazuje specifične efekte na membranu eritrocita eksperimentalnih životinja, izazivajući veću fragilnost, što dovodi do povećane osetljivosti za osmotsku hemolizu. Izučavanje metabolizma i distribucije 2-BE pokazalo je da se on primarno metabolizuje u butoksiacetatnu kiselinu (BAK), butoksi etanol glukoronid konjugat (BEG) i butoksi etanol sulfatni konjugat (*Ghanayem i sar.*, 1987). Analiziranje metaboličke osnove hemolitičke anemije indukovane 2-butoksietanolom pokazalo je da je za anemiju odgovorna BAK, koja nastaje pod uticajem alkoholne i aldehidne dehidrogenaze (*Carpenter i sar.*, 1956; *Ghanayem i sar.*, 1987a; *Bartnik i sar.*, 1987). U našoj laboratoriji, u vise eksperimenata na miševima je pokazano da tretman sa 2-butoksietanolom menja redoks stanje celije koje je predstavljeno kao odnos koncentracije oksidovanih ekvivalenata prema koncentraciji redukujućih (*Trajković*, 1996). Kod svih aerobnih organizama, prilikom oksidacije molekuskog kiseonika, dolazi do poremećaja ravnoteže u odnosu na: prooksidant-oksidant i to nazivamo pojmom "oksidativni stres".

Redukcija molekuskog kiseonika do vode uz učešće enzima citohrom oksidaze na unutrašnjoj membrani mitohondrija ili plazma membrani bakterija je najvažniji izvor energije za aerobne organizme. Međutim, nepotpunom redukcijom kiseonika nastaju toksični međuproizvodi poznati kao kiseonikovi slobodni radikali. Naime, redukcijom kiseonika sa jednim elektronom nastaje superoksid anjon radikal (O_2^-). Njegovom dismutacijom pomoću superoksid dismutaze stvara se H_2O_2 , koji takođe nastaje i redukcijom kiseonika sa dva elektrona. Vodonik peroksid nema nesparenih elektrona i nije slobodan radikal, ali je prethodnik veoma reaktivnog hidroksilnog radikala (OH^\cdot). Ova visoko reaktivna forma nastaje reakcijom između H_2O_2 i O_2 u prisustvu divalentnih katjona štp se označava kao Haber-Weiss-ova reakcija (*Haber i Weiss*, 1934; *Wardman*, 1989). Takođe, hidroksilni radikal nastaje od vodonik peroksida učešćem tranzicionih metalnih katjona kao što su Fe^{2+} i CU^+ u takozvanoj Fenton-ovoj reakciji. Ekscitacija molekuskog kiseonika uslovljava promenu spina jednog od elektrona, zbog čega nastaje singletni kiseonik (1O_2) (*Halliwell i Gutteridge*, 1984). Primarna zaštita ćelije od

produkcije slobodnih radikala je redukovanje kiseonika do vode prenosom 4 elektrona pomoću citohrom oksidaze, bez stvaranja kiseonikovih radikala kao međuproizvoda {Halliwell, 1981}. Drugi pravac zaštite od slobodnih radikala je omogućen enzimima (superoksid dismutaze, katalaza, peroksidaze) koji katalizuju uklanjanje međuproizvode redukcije kiseonika {Hassan, 1984}. Treći sistem zaštite je dopunjen nivoom antioksidanata male molekulske mase kao što su: vitamin E, askorbinska kiselina i redukovani glutation {Hassan, 1984}.

Cilj rada

Ovim radom ispitivali smo aktivnost enzima antioksidativnog sistema u cilju kompletnije analize patogenetskih mehanizama pri subhroničnoj intoksikaciji 2-butoksietanolom.

Materijal i metode

Za eksperiment je uzeto 16 ženki miševa BALB/c soja, starosti 12-15 nedelja i telesne mase $18 \pm 1,5$ grama. Životinje su hranjene standardnom briketiranom hranom (Veterinarski zavod, Beograd) sa pristupom vodi i hrani ad libidum. Životinje su slučajnim izborom raspoređene u dve eksperimentalne grupe od po 8.2-BE je davan u dozi od 500 mg/kg peroralno metalnom sondom, jednom dnevno, tokom deset dana, dok je kontrolna grupa tretirana na isti način fiziološkim rastovom. Miševi su žrtvovani kompletnim iskrvavljenjem iz retroorbitalnog pleksusa. Mase organa (jetra, slezina), merene su na analitičkoj vagi "Mettler". Priprema uzoraka: Vršni seperfuzija (ispiranje) jetre sa 1 ml hladnog fiziološkog rastvora kroz portalnu venu. Na jedan gram tkiva dodaje se 10 ml fosfatnog pufera, a homogenizovanje se vrši sa 10 udara tučkom. Tako dobijeni homogenat prebaci se u centrifužne epruvete i centrifugira 15 minuta na 3000 rpm u centrifugti sa hlađenjem. Posle centrifugiranja uzima se oko 1 ml supernatanta u kojem se rade sve analize. Određivanje koncentracije ukupnih proteina vršeno je metodom Lowry i sar. (1951). Metoda se zasniva na biuretskoj reakciji peptidnih veza i Ca^{2+} jona u alkalnoj sredini i reakcije fosfomolibdenskog-fosfovolframskog reagensa sa aromatičnim aminokiselinama (tirozin i triptofan) polipeptidnih lanaca. U reakciji nastaje kompleksno jedinjenje plave boje sa maksimumom apsorpcije na 750 nm. Aktivnost enzima aktalaze određivana je po metodu Beutler-a (1982) spektrofotometrijskom metodom u ultraljubičastoj oblasti (UV). Razgradnja vodonik peroksida (H_2O_2) može se direktno pratiti tako što se prati opadanje absorbance na talasnoj dužini od 230 nm. Aktivnost superoksid dismutaze (SOD) određivana je metodom Misra i Fridovich {1972}. Princip metode se sastoji u sposobnosti SOD da sprečava autooksidaciju adrena-

lina (epinefrina) u adrenohrom u baznoj sredini. Autooksidacija adrenalina prati se spektrofotometrijski preko promene absorbance na talasnoj dužini 480 nm. Dobijeni rezultati predstavljeni su u tabeli, a za testiranje razlika na pragu značajnosti $p < 0,05$ i $p < 0,01$ koristili smo Student-ov t-test.

Tabela 1. Relativne mase slezine i jetre, koncentracije proteina, aktivnost katalaze (CAT), citozolne superoksid dismutaze (CuZn SOD) i mitohondrijalne superoksid dismutaze (Mn SOD) u jetri kontrolnih i miševa tretiranih 2-butoksietanolom (500 mg/kg)

Životinje	Jetra					
	R.M. Slezine	R. M. 'Jetre	Proteini (mg/ml)	CAT (jed./mg prot.). 10^4	CuZn SOD (jed./mg prot.)	MnSOD (jed./mg prot.)
K ₁	0,46	5,23	10,2	5,94	14,93	2,19
K ₂	0,53	6,26	6,84	7,77	17,66	2,88
K ₃	0,46	5,8	7,68	7,83	14,84	2,09
K ₄	0,43	5,21	10,8	7,14	12,76	3,49
K ₅	0,41	5,71	9,4	6,84	11,02	3,39
K ₆	0,36	5,93	9,96	7,1	9,45	2,77
K ₇	0,35	5,64	10,16	5,11	13,82	4,65
K ₈	0,54	5,29	9,36	5,83	13,82	3,1
X \pm -SD (SE)	0,44 \pm -0,07 (0,03)	5,12 \pm -0,35 (0,12)	8,75 \pm -1,49 (0,53)	6,12 \pm -0,99 (0,35)	12,8 \pm -2,36 (0,83)	2,62 \pm -0,74 (0,26)
2-butoksi- etanol						
(2-BE) ₁	1,03	5,16	10,08	4,42	15,6	1,12
(2-BE) ₂	1,56	6,24	11	5,35	15,02	0,65
(2-BE) ₃	0,57	5,17	11,6	6,8	10,32	2,3
(2-BE) ₄	1,03	5,22	10,36	5,25	13,16	2,41
(2-BE) ₅	1,35	6,05	12,04	5,96	14,82	1,8
(2-BE) ₆	1,28	5,73	9,7	5,54	11,33	1,65
(2-BE) ₇	1,17	5,15	8,56	6,09	12,53	1,23
(2-BE) ₈	1,2	5,76	11,2	6,02	10,21	1,31
X \pm -SD (SE)	1,15 \pm -0,29 (0,10)**	5,25 \pm -0,46 (0,16)	10,2 \pm -1,28 (0,45)*	5,25 \pm -0,71 (0,59)	11,4 \pm -4,56 (1,61)	1,12 \pm -0,64 (0,22)**
¹ Relativna masa=Apsolutna masa organa/Telesna masa Statistička značajnost u odnosu na kontrolnu grupu životinja na nivou $p < 0,05$ (*) i $p < 0,01$ (**).						

Rezultati rada

Rezultati subhroničnog tretmana miševa sa 2-BE, iskazani na tabeli 1 su sledeći:

1. Nakon desetodnevnog tretmana sa 2-BE u dozi od 500 mg/kg došlo je do statistički značajnog povećanja relativne mase slezine u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,01$).
2. Nismo zabeležili značajnu promenu relativne mase jetre između tretiranih i životinja kontrolne grupe.
3. Registrovali smo statistički značajno povećanje koncentracije proteina u grupi tretiranih životinja 2-butoksietanolom ($p < 0,05$).
4. Aktivnost katalaze u jetri je smanjena u grupi tretiranih životinja u odnosu na kontrolnu grupu, ali ovo smanjenje nije bilo statistički značajno.
5. Takođe i aktivnost CuZnSOD je nesignifikantno smanjena u grupi životinja tretiranih sa 2-BE.
6. Aktivnost MnSOD u jetri miševa tretiranih sa 2-butoksietanolom je signifikantno smanjena u odnosu na kontrolnu grupu životinja ($p < 0,01$).

Diskusija

Relativna masa jetre je blago povećana kod životinja tretiranih 2-butoksietanolom u odnosu na kontrolnu grupu životinja što se slaže sa rezultatima *Grant-a* i sar. (1985), koji su zabeležili signifikantno povećanu relativnu masu ovog organa 1 dan nakon tretmana pacova ovim eter-glikolom. Kod intoksikacije 2-butoksietanolom zna se da su metaboliti biotransformacije, butoksiacetaldehid i butoksi acetatna kiselina, vrlo aktivni i hemijski agresivni metaboliti. Generalno, hemikalije koje su rastvorljive u lipidima nisu biološki aktivne dok se ne konvertuju do reaktivnih toksičnih metabolita. Iako ovi metaboliti mogu uzrokovati oštećenje membrane i povredu ćelije direktnim kovalentnim povezivanjem sa proteinima i lipidima membrane, najznačajniji mehanizam kojim oštećuju membranu je preko formiranja reaktivnih slobodnih radikala i lipidna peroksidacija, koja sledi iza toga (*Cotran* i sar., 1994). Nasi rezultati pokazuju da je kod životinja tretiranih 2-butoksietanolom povećana relativna masa slezine što se slaže sa nalazima drugih autora (*Grant* i sar., 1985). Povećanje apsolutne i relativne mase slezine takođe su registrovali *Tyl* i sar. (1984), nakon inhalacionog tretmana F344 pacova 2-butoksietanolom, što može biti posledica stimulacije hematopoeze. Međutim, ovaj homeostatski mehanizam kompenzacije nije potpuno uspešan, što je pokazano statistički značajno smanjenom količinom hemoglobina (*Tyl* i sar., 1984). Aktivnost katalaze je nesignifikantno smanjena u jetri miševa tretiranih sa 2-BE. *Kirkman* i sar. (1987), navode da se aktivnost katalaze smanjuje kada su ćelije izložene peroksidima ili imaju smanjenu sposob-

nost stvaranja NADPH. Dužim izlaganjem katalaze vodonik peroksidu dolazi do oksidacije NADPH u NADP čime se menja redoks status ćelije i aktivnost katalaze se smanjuje za 1/3 od inicijalne vrednosti. Zbog toga glukozo-6-fosfat dehidrogenaza i glukozo-6 fosfat omogućavaju optimalnu katalaznu aktivnost. Međutim, i kod insuficijentnog stvaranja NADPH, NADH služi kao podesan donor za održanje funkcije katalaze (*Gaetani* i sar., 1989). Pošto je katalaza Fe zavisan enzim kod nedostatka gvožđa takođe se zapaža njena smanjena aktivnost (*Acharya* i sar., 1991), a pri intoksikaciji miševa 2-butoksietanolom u kostnoj srži je vrlo smanjena eritroidna loza, dok gubitak Fe je prisutan zbog izražene hemolitičke aktivnosti.

Pored osnovne uloge superoksid dismutaze da katalizuje dismutaciju superoksid anjon radikala u manje reaktivan vodonik peroksid, važna funkcija ovog metaloenzima je da održava stabilnim redoks sistem ćelije i bilans jona, jer su oba važna za konfiguraciju hromatina i ekspresiju gena (*Mariucci* i sar., 1990). Smatra se da smanjenje aktivnosti SOD za 50% ima za posledicu smrt ćelije. Vrednost SOD se smanjuje u eritrocitima u toku ishemije i infarkta miokarda i normalizuje tek posle 12 dana (*Loeper* i sar., 1991). I druga patološka stanja pokazuju pad u aktivnosti SOD: Fankonijeva pancitopenija, srpasta anemija, hemolitički uremijski sindrom (*Kurobe* i sar., 1990), aporast aktivnosti se javlja kod mentalnih poremećaja, anemije zbog deficita Fe i pušenja (*Guemouri* i sar., 1991). Rezultati našeg eksperimenta pokazuju smanjenu aktivnost enzima CuZnSOD i MnSOD u jetri miševa tretiranih sa 2-BE. Ovo smanjenje je signifikantnog karaktera za MnSOD. Dobijeni rezultati su u skladu sa nalazima *Sergent-a.* i sar. (1995), koji su našli smanjenu aktivnost superoksid dismutaze u kulturi hepatocita pacova 1 sat nakon intoksikacije etanolom. Jedan od mogućih mehanizama smanjene aktivnosti SOD, koja je naročito izražena kod aktivnosti MnSOD nakon intoksikacije miševa 2-butoksietanolom mogli bi da objasnimo na sledeći način: Metabolizam 2-butoksietanola posredstvom alkoholne i aldehidne dehidrogenaze produkuje butoksiacetatnu kiselinu, koja je jak hemolitički agens kod eksperimentalnih životinja. Hemoliza eritrocita uzrokuje anemiju i ekstrete medularnu hematopoezu (*Carpenter* i sar., 1956). Hemolitička anemija uzrokuje tkivnu hipoksiju koja izaziva promene u strukturi mitohondrija. Poznato je da promene u strukturi mitohondrija stoje u korelaciji sa njihovim oksidativnim kapacitetom i metaboličkom aktivnošću. U slučaju pojačanih oksidativnih procesa uočavaju se promene na mitohondrijalnim kristama (njihovim pravcima pružanja, uglovima) i mitohondrijalnim granulama (povećava se broj granula). Mitohondrije pružaju jasan primer kako promene u biohemijskoj aktivnosti organela izazivaju promene u finoj građi pomenute strukture (*Grozdanovic'-Radovanović*, 1992). Najverovatnije takva strukturna dezorganizacija mitohondrija uslovljena tkivnom hipoksijom, zbog anemijskog efekta BAK, uslovljava smanjenu aktivnost MnSOD nakon intoksikacije miševa 2-butoksietanolom.

Zaključak

Rezultati naših istraživanja upućuju na sledeće:

1) Povećanje relativne mase slezine je u korelaciji sa ekstramedularnom hematopoezom koja je uzrokovana 2-butoksietanolom.

2) Dominantna slika anemije se može objasniti oštećenjima indukovanim 2-butoksietanolom u čijoj patogenezi u osnovi stoji oksidativni stres.

Literatura

Acharya, J., Panchard, N.A., Taylor, J.A., Thompson, R. P.H. and Pearson, T. C. (1991). Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. *Eur. J. Haematol.*, *47*, 287-291.

Bartnik, F. G., Reddy, A. X., Kleacak, G., Zimmerman, V., Hostynek, J. J. and Kunstler, K. (1987). Percutaneous absorption, metabolism, and hemolytic activity of n-butoxyethanol. *Fundam. Appl. Toxicol.*, *8*, 59-70.

Beutler, E. (1982). Catalase, In: "Red cell metabolism, a manual of biochemical methods", ed. (E. Beutler). Grune and Stratton, 105-106.

Beutler, E. and Matsumoto, F. (1975). Ethnic variation in red cell glutathion peroxidase activity. *Blood*, *46(1)*, 103-110.

Carpenter, C. P., Pozzani, M. S., Weil, C. S., Nair, J.H., Keck, G. A. and Smyth, H. F. (1956). The toxicity of butyl cellosolve solvent. *Arch. Ind. Health*, *74*, 114-131.

Cotran, R., Kumar, V. and Robbins, S. (1994). *Robbins Pathologic Basis of Disease*. W. B. Saunders Company. Philadelphia.

Dodd, D. E., Snelling, W. N. and Maronpot, R. R. (1983). Ethylene glycol monobutyl ether: Acute 9 and 90 day vapor inhalation studies in Fisher 344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, *66*, 405-411.

Gaetani, F. G., Galiano, S., Canepa, L., Ferraris, A. M. and Kirkman, H. N. (1989). Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxication of hydrogen peroxide in human erythrocytes. *Blood*, *73(1)*, 334-339.

Ghanayem, B. I., Burka, L. T., Sanders, J. M. and Matthews, H. B. (1987). Metabolism and disposition of ethylene glycol monobutyl ether (2-butoxyethanol) in rats. *Drug Metab. Dispos.*, *15*, 478-484.

Ghanayem, B. I., Burka, L. T. and Matthews, H. B. (1987a). Metabolic basis of ethylene glycol monobutyl ether (2-butoxyethanol) toxicity. Role of alcohol and aldehyde dehydrogenases. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *242*, 222-231.

Grant, D., Sulch, S., Jones, H. B., Gangolli, S. D. and Beutler, W. H. (1985). Acute toxicity and recovery in the haemopoetic system of rats after treatment with ethylene glycol monomethyl and monobutyl ethers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, *77*, 187-200.

Grozdanović-Radovanović, J. (1992). *Citologija*. Naučna knjiga. Beograd.

Guemori, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G. and Siest, G. (1991). Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin. Chem.*, *37(11)*, 1932-1937.

Haber, F. and Weiss, J. (1934). The catalytic decomposition, of hydrogen peroxide by iron salts. *Proceedings of the Royal Society*, *147*, 332-351.

- Halliwell, B.* (1981). Free radicals, oxygen toxicity and aging, In: "Age pigments", ed. (R. S. Sohal), Elsevier-North, Holland, Biomedical Press, 1-62.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C.* (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.*, 219, 1-14.
- Hassan H. M.* (1984). Superoxide dismutase: an antioxidant defense enzyme, In: "Free radicals in molecular biology, aging and disease", eds. (D. Armstrong, R. S. Sohal, R. S. Cutler and T. F. Slater). Raven Press. New York, 77-85.
- Kirkman, N. //., Galiano, S. and Gaetani, F. G.* (1987). The function of catalase bound NADPH. *J. Biol. Chem.*, 262(2), 660-666.
- Kurobe, N., Suzuki, F., Okajima, K. and Kato, K.* (1990). Sensitive enzyme immunoassay for human SuZn superoxide dismutase. *Clin. Chim. Acta*, 187, 11-20.
- Loeper, J., Goy, J., Rozenstain, L., Brdu, O. and Moisson, P.* (1991). Lipid peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. *Clin. Chim. Acta*, 196, 119-126.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J. Farr, A. L. and Randall, R. J.* (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-272.
- Marriuci, G., Ambrosini, M. and Polarieti, G.* (1990). Differential changes in Zn SOD and Mn SOD activity in developing rat brain and liver. *Experientia*, 46, 753-755.
- McGregor, B. D.* (1984). Genotoxicity of Glycol Ethers. *Environmental Health Perspectives*, 57, 97-103.
- Miller, R. R., Ayres, J. A., Calhoun, L. L., Young, J. T. and McKenna, M. T.* (1981). Comparative short-term inhalation toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and a propylene glycol monomethyl ether in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 61, 368-377.
- Nagano, K., Nakayama, E., Koyano, M., Oobayaski, H., Nishizawa, T., Okuda, H. and Yamazaki, K.* (1984). Experimental studies of toxicity of ethylene glycol ethers in Japan. *Environ. Health Perspect.*, 57, 75-84.
- Ohi, G. and Wegman, D.* (1978). Transcutaneous ethylene glycol monomethyl ether poisoning in the work setting. *J. Occup. Med.*, 20, 675-676.
- Parsons, C. E. and Parsons, M. E. M.* (1983). Toxic encephalopathy and granulopenic anemia due to volatile solvents in industry: Report of two cases. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, 20, 124-133.
- Sabourin, J. P., Medinsky, A. M., Birnbaum, S. L., Griffiths, C. W. and Henderson, F. R.* (1992). Effect of exposure concentration on the disposition of inhaled butoxyethanol by F344 rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 114, 232-238.
- Sergent, O., Morel, I., Chevanne, M., Cillard, P. and Cillard, J.* (1995). Oxidative stress induced by ethanol in rat hepatocyte cultures. *Biochem. Mol. Biol.*, 35, 575-538.
- Tyl, W. R., Milicovsky, G., Dodd, E. D., Pritts, M. I., France, A. K. and Fisher, C. L.* (1984). Teratologic evaluation of ethylene glycol monobutyl ether in Fisher 344 rats and New Zealand White rabbits following inhalation exposure. *Environmental Health Perspectives*, 57, 47-68.
- Trajković, K. N.* (1996). Protektin i deksametazon-modulatori aktivnosti superoksiddismutaze i katalaze u oksidativnom stresu miša BALB/c. Magistarski rad. Biološki fakultet. Beograd.
- Wardman, P.* (1989). Radiation chemistry: basic strategic or tactical science. *Int. J. Radiat. Biol.*, 55, 179-19C.

**EXAMEN DE L'ACTIVITE DES ENZYMES DU SYSTEME
ANTIOXYDATIF DANS L'INTOXICATION SUBCHRONIQUE PAR 2-
BUTOXYETANOL CHEZ LES SOURIS DE LA RACE BALB/c**

Ljubiša MIHAJLOVIĆ, Nevenka K. MIHAJLOVIĆ,
Aleksandar PETROVIĆ et Živojin STANKOVIĆ

*Institut pour la biologie avec la genetique humaine et Institut pour la histologic et
embriologie de la Faculte de Medecine de Niš*

Les auteurs ont examine l'effect de 2-butoxyetanol (2-BE) de la solution organique du groupe ether-glycol sur l'activite des enzymes du systeme antioxydatif dans le foie des souris de la race Balb/c. Les animaux sont traites peroralement au cours de dix jours avec la dose de 500 mg/kg. On a fait l'analyse des parametres morphometriques (masse relative de la rate et du foie), concentration des protides (methode Lowry), activite mitochondriale (manganese) superoxyde de la dismutase (MnSOD) et cystolnes (cuivre-zinc) superoxyde de dismutase (CuZnSOD) (methode Misra et Fridovich) et les activites de la catalase (methode Beutler). Dans la groupe des animaux traites par 2-butoxyetanol on a enregistre la splenomegalie qui indique a l'hematopoese extra modulaire, ainsi que a l'activite des enzymes du systeme antioxydatif. L'activite reduite de la catalase et CuZnSOD dans le foie n'est pas statistiquement significatif par rapport au groupe de controle. Pourtant l'activite de MnSOD est statistiquement et caracteristiquement reduite par rapport au groupe de controle ($p < 0,01$). L'activite reduite des enzymes du systeme antioxydatif indique a la productivite aggrandie des radicals libres. Nos resultats suggerent que l'un des mecanismes possibles des dedommagements pathogeniques dans l'intoxication avec 2-butoxyetanol est base sur le stress oxydatif.

Les mots cles: 2-butoxyetanol, stress oxydatif, superoxydismutase, catalase

**EXAMINATION OF THE ACTIVITY OF THE ANTI OXIDATIVE
SYSTEM ENZYMES IN THE SUBCHRONIC INTOXICATION WITH 2-
BUTOXIETANOLE IN MICE OF BALB/c RACE**

Ljubiša MIHAJLOVIĆ, Nevenka K. MIHAJLOVIĆ,
Aleksandar PETROVIĆ and Živojin STANKOVIĆ

*Institute for Biology with Human Genetics and the Institute for Histology
and Embryology of the Faculty of Medicine, Niš*

The effect of 2-butoxiethanol (2-BE) as an organic solvent from the ether-glycol group upon the anti oxidative system enzymes in the liver of the mice of the Balb/c race is examined. The animals were treated for ten days perorally with the dose

of 500 mg/kg. The morphometric parameters (relative mass of the spleen and the liver) were analyzed as well as protein concentration (Lowry method), mitochondrial (manganese) super oxide dysmutase (MnSOD) activity and that of cytozoic (copper-zinc) super oxide dysmutase (CuZnSOD) (Misra and Fridovich method) in addition to the catalase activity (Beutler method). In the group of animals treated with 2-butoxietanole splenomegaly was registered which pointed to extramedullary hematopoiesis as well as a reduced activity of anti oxidative system enzymes. The reduced catalase activity and CuZnSOD in the liver are not statistically important with respect to the control group. However, the activity of MnSOD is statistically considerably reduced regarding the control group ($p < 0,01$). The reduced anti oxidative system enzyme activity points to increased production of free radicals. Our results suggest that one of the possible mechanisms of pathogenetic damage in the 2-butoxietanole intoxication is based upon oxidative stress.

Key words: 2-butoxietanole, oxidative stress, superoxidizedysmutase, catalase

Autor: Ass. dr sci Ljubiša Mihajlović, molekularni biolog, Institut za biologiju sa humanom genetikom Medicinskog fakulteta u Nišu; kućna adresa: Niš, Triglavska 7/2.

(Rad je Uredništvo primilo 28. januara 2002. godine)

X^Δ > Y^{§}

v^c