

УДК 57.086.8.

ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ АКРОЛЕЇНУ ТА ФОРМАЛЬДЕГІДУ НА ТИМОЦИТИ ЩУРА В УМОВАХ *IN VITRO*

Токарчук К.О., Парілова О.О.

*Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ, Україна
E-mail: katiywa@ukr.net*

In vitro на тимоцитах щура досліджено цитотоксичні властивості акролеїну (АКР: 5-15 мкМ) та формальдегіду (ФА: 100-300 мкМ) та їх комбінованої дії на 12-ту і 15-ту години інкубації. Показано, що LD_{50} для АКР становить 50 мкМ, а для ФА – 400 мкМ. Максимальний приріст загиблих клітин спостерігається для АКР при концентраціях 5-10 мкМ, а для ФА – при 0-100 мкМ. Так, для АКР: при 0-5 мкМ приріст загиблих тимоцитів становить 0,1 %/мкМ, при 5-10 мкМ – 0,7 %/мкМ, при 10-15 мкМ – 1 %/мкМ; для ФА: при 0-100 мкМ – 1 %/мкМ, при 100-200 мкМ – 0,1 %/мкМ, при 200-300 мкМ – 0,4 %/мкМ. Після 12 годин інкубації додаткові 3 години не вплинули на кількість загиблих клітин з АКР, але при дії ФА цей показник збільшився в 1,4 разів. При комбінованій дії АКР та ФА відбувається посилення цитотоксичної дії. За 12 год інкубації їх комбінована дія була вища за математичну суму загиблих клітин при окремій дії кожного з них більш ніж в 1,5 рази. Можна припустити, що при патологічних станах з гіперпродукцією цих альдегідів варто очікувати зростання цитотоксичних проявів.

Ключові слова: тимоцити, формальдегід, акролеїн, протокова цитометрія, цитотоксичність.

ВСТУП

В організмі в процесі метаболізму утворюються різноманітні альдегіди, які в залежності від їхньої концентрації можуть відігравати регуляторну роль, або проявляти токсичні властивості. До таких альдегідів належать формальдегід (ФА) та акролеїн (АКР), які мають різні шляхи метаболізму в організмі та характер цитотоксичної дії.

ФА (CH_2O), як проміжний продукт циклів метилювання, утворюється в процесі одновуглецевого шляху метаболізму, в якому беруть участь такі інтермедіати як S-аденозил-метионін, S-аденозил-гомоцистеїн, L-гомоцистеїн, L-метионін і тетрагідрофолієві кислоти, а джерелом метильних груп є серин і бетаїн [1-4]. Інший шлях утворення ФА відбувається за участі відновленого глутатіону, що неферментативно утворює адукт з ФА – S(гідроксиметил)глутатіон. В ряді перетворень в подальшому знову утворюється глутатіон і вивільняється форміат [5], що включається в тетрагідрофолат і тим самим повертає метильну групу в метаболічний фонд циклів одновуглецевого шляху обміну, в процесі функціонування яких повторно утворюється ФА [6-8].

Основними ендогенними джерелами ФА, окрім вище наведених, є гліцерол і продукти катаболізму адреналіну і фосфатидилхоліну – метиламін і саркозин.

Останні деметилуються семікарбазид чутливою амінооксидазою (SSAO) і саркозин оксидазою. Разом з ФА ці ферменти також утворюють перекис водню [9-12].

Основним ендogenous джерелом АКР (C_3H_4O) є процес перекисного окиснення ліпідів активними формами кисню при оксидативному стресі. Продуктами цього процесу є АКР, малоновий діальдегід і гідропероксиди. Крім цього, АКР може утворюватись за участі амінокислот, зокрема метіоніну і треоніну, а також поліамінів [13]. Утворення АКР і його попередника 2-гідроксипропаналью з треоніну опосередковане мієлопероксидазою і потребує присутності пероксиду водню та йонів хлору [14]. 3-амінопропаналь є важливим метаболітом в катаболізмі поліамінів сперміну і спермідину, що відбувається за участю Cu^{2+} -залежної амінооксидази і здатний дисоціювати на АКР і аміак [15].

Токсична дія альдегідів зумовлена їх здатністю алкілувати аміногрупи амінокислот та основ нуклеїнових кислот, реагувати з протеїнами і пептидами з подальшим утворенням стійких інтермедіатів у вигляді Шиффових основ або N-гідроксиметильних адуктів, утворювати поперечні метиленові містки між зближеними ділянками в протеїнах [16-17]. Такі реакції призводять до порушення функцій ензимів та інших клітинних структур [18-21,22].

Мутагенні та цитотоксичні властивості цих альдегідів пов'язані з їх здатністю утворювати ДНК-протеїнові поперечні зшивки між NH_2 -групою лізину гістонів і екзоциклічними аміногрупами основ (A і G) ДНК [23].

Велика кількість альдегідів генерується в організмі за різних патологій, наприклад, при хворобах Альцгеймера, Паркінсона, атеросклерозі, діабеті. Особливе місце займає паління, оскільки цей процес призводить до підвищення рівня акролеїну в організмі, а також до накопичення його в концентрації приблизно 80 мкМ в дихальних шляхах [24].

Метою роботи було дослідити та порівняти цитотоксичну дію АКР та ФА, а також визначити характер їх комбінованої дії на тимоцити щура в умовах *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В роботі використовували наступні реактиви: етидіум бромід (Fisher BioReagents, Канада), поживне середовище RPMI-1640 («Sigma», США), HEPES («Sigma», США), L-глутамін («Sigma», США), акролеїн («Sigma», США), формальдегід (водний розчин формаліну, Альфарус, Україна), інактивована бичача сироватка («Sigma», США).

У досліді використовували суспензію тимоцитів отриману від щурів лінії Wistar масою тіла 80-100 г. Усі маніпуляції з тваринами приводили згідно з Міжнародною конвенцією роботи з тваринами та Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Використовували поживне середовище RPMI-1640, що містило 10мМ HEPES- Na_2CO_3 -буфер (pH 7,3), 200мМ L-глутаміну, 10% ембріональну інактивовану бичачу сироватку, 100 од/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину. Тимоцити виділяли шляхом м'якого перетирання і промивання тканини тимуса поживним середовищем через капронову сітку. Суспензію клітин двічі відмивали поживним середовищем з наступним центрифугуванням 1000 g впродовж 5 хв. Отриману суспензію тимоцитів ($2 \cdot 10^6$ клітин) інкубували з АКР (5,

10, 15 мкМ) і ФА (100, 200, 300 мкМ) окремо, та в комбінаціях (5мкМ АКР і 100мкМ ФА, 10мкМ АКР і 200 мкМ ФА, 15 мкМ АКР і 300 мкМ ФА) впродовж 12 та 15 годин при 37°C в 5% CO₂ атмосфері. Вплив альдегідів на тимоцити щура в умовах *in vitro* оцінювали методом протокової цитометрії з використанням флуорохрому етидіум броміду. Кінцева концентрація флуоресцентного барвника в зразку становила 1,5 мкМ. Зразки забарвлювали 15 хв при 25°C і зберігали не більше 1 год при 4°C. Життєздатність тимоцитів під дією ефекторів аналізували на протоковому цитометрі Beckman Coulter (США), визначаючи інтенсивність флуоресценції по FL-3 каналу (620±10 нм). Накопичували 10000 подій для кожного виміру.

Статистичну вірогідність результатів оцінювали за t-критерієм Стьюдента в програмі MS Excel 2007. Довірчі інтервали середніх значень визначали шляхом підрахунку стандартного відхилення. Відмінності вважали статистично значущими при p<0,05 [25].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

В даній роботі порівняли цитотоксичну дію ФА і АКР на тимоцити щура. Ці альдегіди викликали залежну від концентрації загибель клітин. Результати даних вказують на те, що цитотоксична дія цих сполук на клітини відрізняється. З наведених на Рис.1 і Рис. 2 результатів видно, що АКР проявляє потужнішу цитотоксичну дію на клітини, ніж ФА. Так, LD₅₀ для ФА становить приблизно 400 мкМ, тоді як для АКР – 50 мкМ. Тобто, для того, щоб отримати однаковий цитотоксичний ефект дії кожного з цих альдегідів, потрібно взяти концентрацію ФА у 8 разів більшу, ніж АКР. Результати представлені без віднімання контролю. Рівень контролю становив (10,8±1,4)% за 12 годин інкубації, (17,1±1,8)% за 15 годин інкубації. За перші декілька годин інкубації значну загибель клітин не спостерігали, тому для спостереження було вибрано 12 і 15 год інкубації.

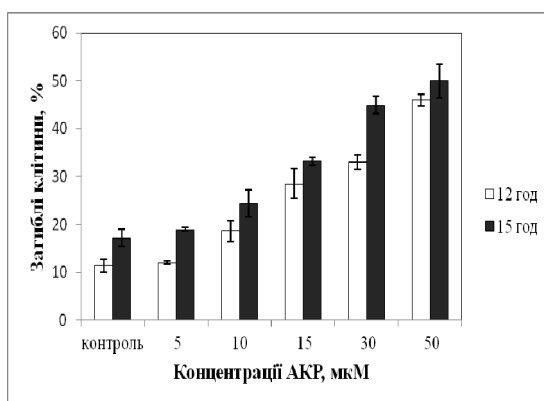


Рис.1. Концентраційна залежність цитотоксичної дії акролеїну без віднімання контролю на тимоцити щура протягом 12 і 15 годин інкубації.

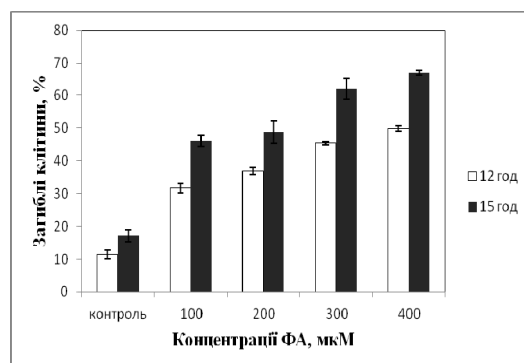


Рис. 2. Концентраційна залежність цитотоксичної дії формальдегіду без віднімання контролю на тимоцити щура протягом 12 і 15 годин інкубації.

Розраховали параметр $Pr(K_{ij})$ - приріст відсотку загиблих клітин при прирості концентрації альдегідів за 15 годин інкубації:

$$Pr(K_{ij}) = \frac{\Delta Z_{ij}}{\Delta K_{ij}} \left[\frac{\%}{\text{мкМ}} \right], \quad (1)$$

де ΔZ_{ij} – приріст відсотку загиблих клітини в діапазоні концентрації K_i-K_{i+1} , ΔK_{ij} – діапазон концентрації (АКР: 0-5, 5-10, 10-15 мкМ; ФА: 0-100, 100-200, 200-300 мкМ), j – номер групи. В результаті розрахунку отримали наступні величини параметру $Pr(K_{ij})$ для АКР: 0,2; 1,24; 1,76 %/мкМ; для ФА: 0,29; 0,3; 0,13 %/мкМ відповідно. Для графічного порівняння характеру змін цього параметру розрахований приріст пронормували на максимальне значення у відповідній групі:

$$Pr(K_{ij})_{\text{норм}} = \frac{Pr(K_{ij})}{Pr(K_{ij})_{\text{max}}}. \quad (2)$$

Результати розрахунків наведені на Рис.3 та свідчать про те, що характер залежності цитотоксичного ефекту від концентрації для АКР та ФА принципово відрізняється. Максимальний приріст цитотоксичної дії АКР проявляє при концентраціях в діапазоні 10-15 мкМ, тоді як ФА – при концентраціях до 100 мкМ.

Для порівняльної оцінки динаміки цитотоксичної дії цих альдегідів розраховали відносний приріст відсотку загиблих клітин від 12-ї до 15-ї години інкубації (рис.4.):

$$Pr(t_j) = \frac{Z_j(15) - Z_j(12)}{Z_j(12)}, \quad (3)$$

де $Z_j(12)$ та $Z_j(15)$ – відсоток загиблих клітин на 12-ту та 15-ту годину інкубації АКР ($j=1$) та ФА ($j=2$).

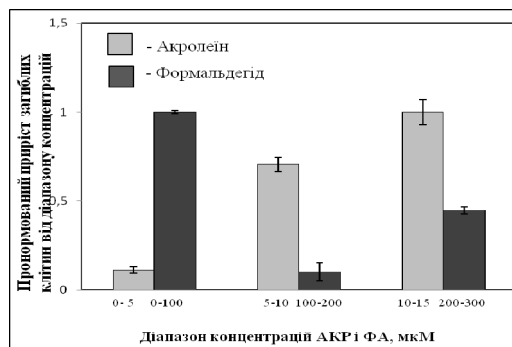


Рис. 3. Залежність пронормованого приросту загиблих клітин від діпазону концентрації акролеїну та формальдегіду на 15-ту годину інкубації тимоцитів.

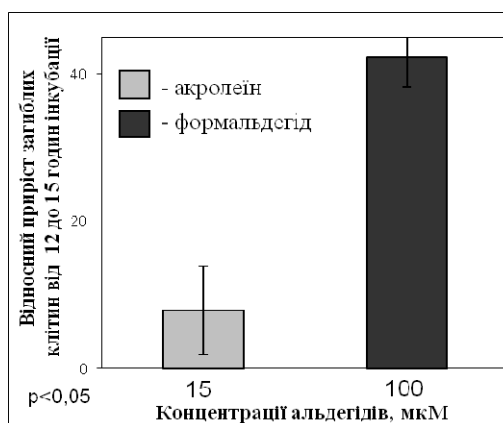


Рис. 4. Відносний приріст загиблих клітин від 12-ї до 15-ї години інкубації з 15 мкМ акролеїну та 100 мкМ формальдегіду.

Для порівняння взяли концентрації альдегідів, при яких спостерігали приблизно однаковий цитотоксичний ефект на клітини: АКР - 15 мкМ ($15 \pm 1,5$ % загиблих клітин) та ФА - 100 мкМ ($19,2 \pm 1,6$ %). Відносний приріст загиблих клітин у даному діапазоні часу при дії ФА у 5 разів більший, ніж при дії АКР ($0,42 \pm 0,06$ та $0,08 \pm 0,06$ від.од. відповідно, $p < 0,05$). Такий результат свідчить про те, що АКР проявляє більш «швидкий» цитотоксичний ефект в порівнянні з ФА, тобто після 12 годин інкубації з АКР додаткові три години не внесли суттєвих змін. При дії ФА, на відміну від АКР, продовження інкубування викликало приріст загиблих клітин в 1,4 рази, що свідчить про більш «повільний» характер цитотоксичної дії.

Відомо, що етидіум бромід проникає через клітинні мембрани тільки мертвих клітин і утворює флуоресцентний адуکت з ДНК. На рис.6 представлені результати протокової цитометрії у вигляді 2-D розподілу клітин між параметром прямого світлорозсіювання (Forward Scattering (FSC)), який залежить від розміру клітини, та інтенсивністю флуоресценції по третьому каналу (FL-3, $\lambda_{ex}=488$ нм, $\lambda_{em}=610-630$ нм). На діаграмі видно, що живі клітини, які мають власну автофлуоресценцію, локалізовані у лівому верхньому кутку залежності. У правій нижній частині

локалізовані клітини, розмір яких менший, а інтенсивність флуоресценції більша, ніж у живих клітинах. Інтенсифікація флуоресценції пов'язана з включенням до клітин барвника, тому характеризує мертві тимоцити. Зменшення розміру мертвих клітин характерно саме для апоптозного шляху загибелі. Тому можна припустити, що при дії ФА та АКР на тимоцити щура відбувається ініціалізація апоптозу клітин.

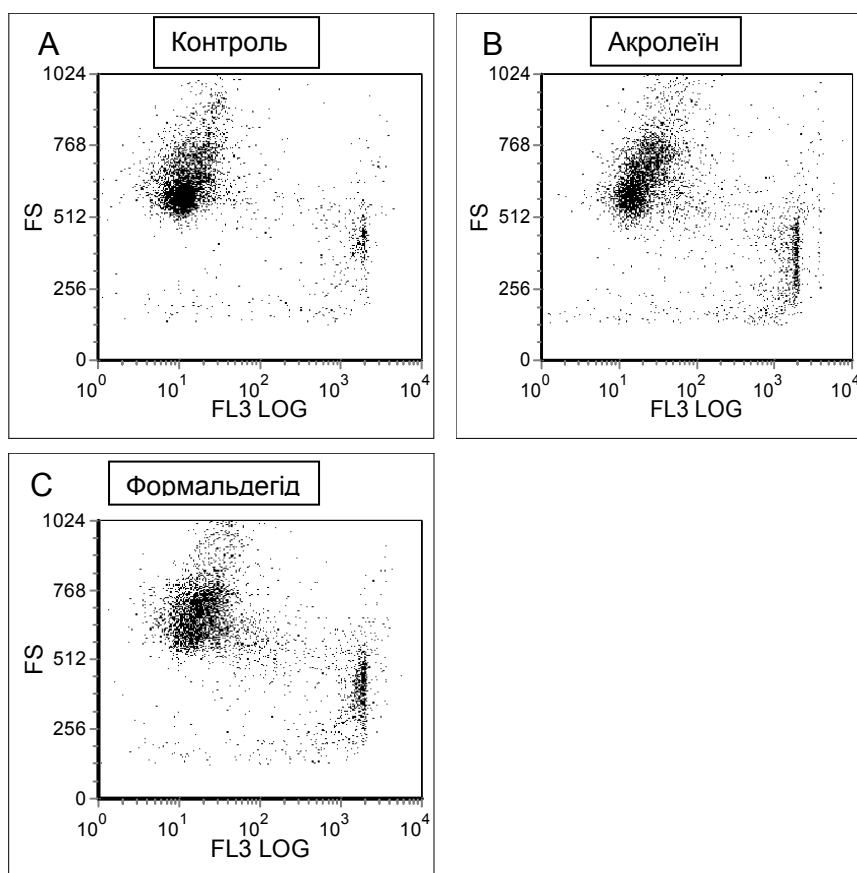


Рис. 4. Результат протокової цитометрії: А – контроль; В – акролеїн (15 мкМ); С – формальдегід (100 мкМ), 12 год інкубації.

Теоретично, при комбінованій дії кількох ефекторів може спостерігатися один з трьох результатів: сумація результату окремої дії ефекторів (адитивність), антагонізм (зниження сумарного ефекту) та синергізм (збільшення сумарного ефекту). Цитотоксична дія альдегідів досить широко досліджується, але дані про характер їх комбінованої дії відсутні. В даній роботі дослідили характер комбінованої дії АКР і ФА на тимоцити щура у таких комбінаціях концентрації: 5мкМ АКР + 100мкМ ФА, 10мкМ АКР + 200мкМ ФА, 15мкМ АКР + 300мкМ ФА. З наведених вище результатів розрахували математичну суму загиблих клітин, при окремій дії цих альдегідів відповідної концентрації та порівняли розраховану суму з

результатом їх комбінованої дії. Отримані результати, які показано на рис.5, вказують на те, що при комбінованій дії АКР та ФА відбувається суттєве підсилення цитотоксичної дії цих альдегідів при інкубації впродовж 12-ти та 15-ти годин. Так, наприклад, при комбінованій дії цих альдегідів у всіх трьох варіантах концентрацій на 12-ту годину інкубації кількість загиблих клітин була в 1,5 разів більшою за суму результатів окремої дії цих сполук ($p < 0,05$).

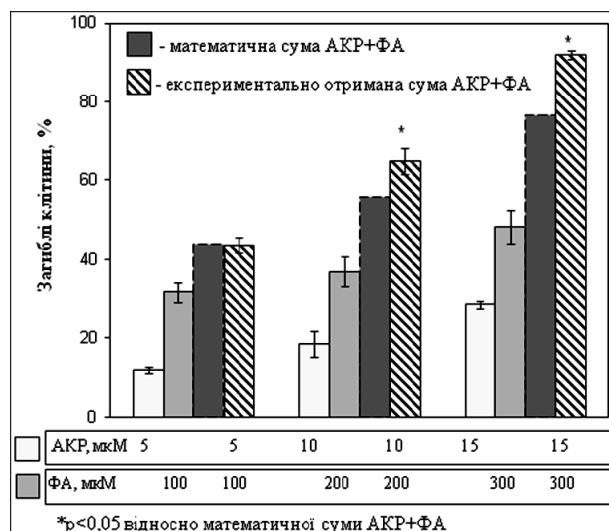


Рис.5. Комбінована цитотоксична дія акролеїну та формальдегіду на тимоцити щура протягом 12 год інкубації.

На основі отриманих результатів можна зробити припущення, що при одночасній інтенсифікації процесів утворення різних альдегідів, наприклад підвищення активності SSAO на фоні підсилення процесів перекисного окиснення ліпідів, буде відбуватися стрімке зростання цитотоксичних ефектів за рахунок комбінованої дії цих активних карбонільних сполук.

ВИСНОВОК

АКР, в порівнянні з ФА, є більш токсичним при дії на тимоцити щура. Так, LD_{50} для АКР становить приблизно 50 мкМ, тоді як для ФА - 400 мкМ. Характер цитотоксичної дії цих альдегідів відрізняється тим, що при збільшенні концентрації ефектора максимальний приріст загиблих клітин спостерігається для АКР при високих концентраціях, а для ФА – при низьких. При комбінованій дії АКР та ФА відбувається суттєве посилення цитотоксичних властивостей. Так, на 12 годину інкубації результат їх комбінованої дії був більш ніж в 1,5 разів вищим за математичну суму загиблих клітин при окремій дії кожного з них. Очевидно, що при розвитку патологічних станів, при яких відбувається посилення утворення цих альдегідів, варто очікувати суттєве зростання цитотоксичних проявів.

Список літератури

1. Barak A.J. Betaine, metabolic by-product or vital methylating agent? / A.J. Barak, D.J. Tuma // *Life Sci.* – 1983. – Vol. 32, No 7. – P. 771-774.
2. Finkelstein J.D. Methionine metabolism in mammals. Adaptation to methionine excess. / J.D. Finkelstein, J.J. Martin // *J. Biol. Chem.* – 1986. – Vol. 261, No 4. – P. 1582-1587.
3. Formaldehyde cycle and the natural formaldehyde generators and capturers. / E. Tyihák, L. Albert., Z.I. Németh [et al.] // *Acta Biol Hung.* – 1998. – Vol. 49, No 2-40. – P. 225-38.
4. Tyihák, E. Formaldehyde cycle and the phases of stress syndrome. / E. Tyihák, L. Trézl and B. Szende // *Ann. N. Y. Acad. Sci. USA.* – 1998. – Vol. 851. – P. 259-270.
5. Pourmotabbed T. Bovine liver formaldehyde dehydrogenase. Kinetic and molecular properties. / T. Pourmotabbed, M.J. Shih, D.J. Creighton. // *J. Biol Chem.* – 1989. – Vol. 264, No 29. – P. 17384-17388.
6. Kalász H. Biological role of formaldehyde, and cycles related to methylation, demethylation, and formaldehyde production. / H. Kalász // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2003. – Vol. 3, No 3. – P. 175-92.
7. Liesivuori J. Methanol and formic acid toxicity: biochemical mechanisms. / J Liesivuori, H Savolainen. // *Pharmacol. Toxicol.* – 1991. – Vol. 69, No 3. – P. 157-63.
8. Szende B. Effect of formaldehyde on cell proliferation and death. / B. Szende, E. Tyihák // *Cell Biol Int.* – 2010. – Vol. 34, No 12. – P. 1273-82.
9. Дмитренко Н.П. Роль взаимодействия путей метаболизма формальдегида и оксида азота в механизме их токсического действия. II. Токсическое действие оксида азота. / Н.П. Дмитренко., А. Холиан // *Укр. Биохим. Журнал.* – 2005. – Vol. 77, No 5. – P. 5–26.
10. Overbeek R., Larsen N., Selkov E.E., Maltsev M. // 1998 WWW URL; <http://www.cme.msu.edu/WIT/>
11. Wagner M.A. Monomeric sarcosine oxidase: Kinetic studies with sarcosine, alternate substrates, and a substrate analogue. / M.A. Wagner, M.S. Jorns // *Biochemistry.* – 2000. – Vol. 39, No 30. – P. 8825-8829.
12. Yu P.H. Formaldehyde produced endogenously via deamination of methylamine. A potential risk factor for initiation of endothelial injury. / P.H. Yu, D.M. Zuo // *Atherosclerosis.* – 1996. – Vol. 120, No 1-2. – P. 189-197.
13. Acrolein induces selective protein carbonylation in synaptosomes. / C.F. Mello, R. Sultana, M. Piroddi [et al.] // *Neuroscience.* – 2007. – Vol. 147. – P. 674–679.
14. Human neutrophils employ the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system to convert hydroxy-amino acids into glycolaldehyde, 2-hydroxypropanal, and acrolein. A mechanism for the generation of highly reactive alpha-hydroxy and alpha,beta-unsaturated aldehydes by phagocytes at sites of inflammation. / M.M. Anderson, S.L. Hazen, F.F. Hsu [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol. 99. – P. 424–432.
15. O'Brien P.J. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. / P.J. O'Brien, A.G. Siraki, N. Shangari // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2005. Vol. 35. – P. 609–662.
16. Kitamoto Y. Reevaluation of the reaction of formaldehyde at low concentration with amino acids. / Y. Kitamoto, H. Maeda. // *J. Biochem.* – 1980. Vol. 87, No 5. – P. 1519-30.
17. Identification of formaldehyde-induced modifications in proteins : reactions with model peptides. / B. Metz, G.F. Kersten, P. Hoogerhout [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, No 8. – P. 6235-43.
18. Formaldehyde: integrating dosimetry, cytotoxicity, and genomics to understand dose-dependent transitions for an endogenous compound. / M.E. Andersen, H.J. Clewell 3rd, E. Bermudez [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2010. – Vol. 118, No 2. – P. 716-31.
19. Formaldehyde mechanistic data and risk assessment: endogenous protection from DNA adduct formation. / C.C. Conaway, J. Whysner, L.K. Verna [et al.] // *Pharmacol. Ther.* – 1996. Vol. 71, No 1-2. – P. 29-55.
20. Deng Y. Simultaneous determination of formaldehyde and methylglyoxal in urine : involvement of semicarbazide-sensitive amine oxidase-mediated deamination in diabetic complications. / Y. Deng., P.H. Yu. // *J. Chromatogr. Sci.* – 1999. – Vol. 37, No 9. – P. 317-2.
21. Esterbauer H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. / H. Esterbauer, R.J. Schaur, H. Zollner // *Free Radical Biol. Med.* – 1991. – Vol. 11. – P. 81–128.
22. Acrolein scavengers : reactivity, mechanism and impact on health. / Q. Zhu, Z. Sun, Y. Jiang [et al.] // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2011. – Vol. 55, No 9. – P. 1375-90.
23. Stevens J.F. Acrolein: sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease. / J.F. Stevens, C.S. Maier. // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2008. – Vol. 52, No 1. – P. 7-25.

24. Acrolein-induced cytotoxicity in cultured human bronchial epithelial cells. Modulation by alpha-tocopherol and ascorbic acid. / Mirella Nardini, E.I. Finkelstein, S. Reddy [et al.] // Toxicology. – 2002. – Vol. 170. – P. 173-185.
25. Плохинский М.А. Математические модели в биологии / Плохинский М.А. – М. : Изд-во Моск. ун-та. – 1981. – 265 с.

Токарчук К.О. Сравнительное исследование цитотоксического действия акролеина и формальдегида на тимоциты крыс в условиях *in vitro* / К.О. Токарчук, О.О. Парилова // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С.206-214.

В исследованиях *in vitro* на тимоцитах крыс изучено цитотоксические свойства акролеина (АКР: 5-15 мкМ) и формальдегида (ФА: 100-300 мкМ), а также их комбинированное действие на 12-ый и 15-ый час инкубации. Показано, что LD₅₀ для АКР составляет 50 мкМ, а для ФА – 400 мкМ. Максимальный прирост погибших клеток наблюдается для АКР при концентрациях 5-10 мкМ, а для ФА – при 0-100 мкМ. Для АКР: при 0-5 мкМ прирост погибших тимоцитов составляет 0,1 %/мкМ, при 5-10 мкМ – 0,7 %/мкМ, при 10-15 мкМ – 1 %/мкМ; для ФА: при 0-100 мкМ – 1 %/мкМ, при 100-200 мкМ – 0,1 %/мкМ, при 200-300 мкМ – 0,4 %/мкМ. После 12 часов инкубации дополнительные 3 часа почти не влияли на количество погибших клеток с АКР, но при действии ФА этот показатель увеличился в 1,4 раза. При комбинированном действии АКР и ФА происходит существенное усиление цитотоксических свойств. Так, за 12 часов инкубации результат их комбинированного действия был выше математической суммы погибших клеток при отдельном действии каждого из них приблизительно в 1,5 раза. Поэтому, можно предположить, что при развитии патологических состояний, при которых происходит усиление образования этих альдегидов, стоит ожидать возрастание цитотоксических проявлений.

Ключевые слова: тимоциты, акролеин, формальдегид, проточная цитометрия, комбинированное действие.

Tokarchuk K.O. Comparative study of acrolein and formaldehyde cytotoxic effect on rat thymocytes *in vitro* / K.O. Tokarchuk, O.O. Parilova // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No. 3. – P. 206-214.

It has been investigated the acrolein (ACR: 5-15 μM) and formaldehyde (FA: 100-300 μM) cytotoxic effect on rat thymocytes, and also their mutual action during 12 and 15 hrs of incubation. The obtained result indicates that LD₅₀ for ACR is 50 μM and for FA – 400 μM. The difference of the cytotoxic action of these aldehydes is that the maximum increment of dead cells is observed for the ACR at 5-10 μM concentration, and for FA – at 0-100 μM. For ACR: at concentration of 0-5 μM increment of dead thymocytes is 0,1 %/μM, at 5-10 μM – 0,7 %/μM, at 10-15 μM – 1 %/μM, for the FA: at 0-100 μM – 1 %/μM, at 100-200 μM – 0,1 %/μM, at 200-300 μM – 0,4 %/μM. After 12 hours of incubation with ACR during additional 3 hours the dead cells percentage was same, but with FA this index increased in 1,4 times. Under the ACR and FA mutual action was the significant enhancement of the cytotoxic effect. So, for 12 hours of incubation, the result of their combined effect was greater than mathematical sum in approximately 1,5 times. Therefore, it can be assumed that the development of pathological conditions with hyperproduction of these aldehydes may result in the cytotoxic effects increasing.

Keywords: thymocytes, acrolein, formaldehyde, flow cytometry, combine effect, cytotoxicity.

Поступила в редакцию 11.10.2012 г.