

УДК 543.393-06:[616.15+616.36]-008.6-092.9

Л. А. Бойко, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського

РОЗВИТОК ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ КАРБОФОСОМ

В експерименті на білих щурах встановлено, що тридцятиденне надходження в організм карбофосу в дозі 20 мг/кг маси тіла призводить до активації процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків, чим поглиблюється ендогенна інтоксикація. Про останнє свідчить підвищення вмісту молекул середньої маси в сироватці крові та печінці щурів після ураження. Одночасно виявлено пригнічувальний вплив карбофосу на активність ацетилхолінестерази, що може бути маркером нейротоксичності даного ксенобіотика.

Ключові слова: карбофос; ліпопероксидація; окиснювальна модифікація білків; молекули середньої маси; ацетилхолінестераза

ВСТУП

Екологічна ситуація на планеті з кожним роком ускладнюється. Це пов'язано із постійно наростаючою потужністю промислових підприємств, відкриттям нових заводів і фабрик, а також збільшенням кількості транспортних засобів, з появою нових технологічних процесів, хімічних речовин. Все це призводить до значного забруднення довкілля. У світовому сільському господарстві щорічно використовується 500 млн тонн мінеральних добрив, 3 млн тонн отрутохімікатів. Людина постійно зазнає негативного їх впливу, що супроводжується гострими та хронічними отруєннями [2, 3].

В патогенезі багатьох інтоксикацій лежить активація процесів вільнорадикального окиснення. Враховуючи постійний контакт людини з інсектицидами, гербіцидами, ми дослідили їх негативний вплив на нервову систему [1].

Відомо, що для фосфороорганічних сполук (ФОС) характерний кумулятивний ефект, і після тривалого контакту з цими речовинами спостерігаються симптоми загальної інтоксикації [6, 7].

Виходячи з цього, ми поставили за мету дослідити активність процесів вільнорадикального окиснення та ступінь ендогенної інтоксикації за умов тривалого ураження щурів карбофосом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди проведені на білих щурах-самцях масою тіла 175-200 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Тварини розділені на чотири гру-

пи: I-а – інтактний контроль; II-а – тварини, уражені карбофосом протягом 10 днів; III-я група – тварини, уражені карбофосом протягом 20 днів та IV-а група – щури, уражені карбофосом протягом 30 днів. Карбофос вводили щоденно внутрішньошлунково у вигляді водного розчину з розрахунку 20 мг/кг маси тіла тварини, що становить 1/10 від LD₅₀. На 10-у, 20-у та 30-у добу від початку введення карбофосу щурів піддавали евтаназії з використанням тіопенталу натрію. Для досліджень обрали сироватку крові та печінку тварин.

Всі досліди на тваринах проводили з дотриманням вимог Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986) [8].

Ендогенну інтоксикацію оцінювали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) – фракції СМ₁ та СМ₂, які є маркерами даного процесу [12], продуктів окиснювальної модифікації білків 2,4-ДФНГ [4] та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [10], а нейротоксичність карбофосу оцінювали за активністю ацетилхолінестерази (АХЕ) [5].

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента [9].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що у сироватці крові та печінці щурів після отруєння карбофосом проходить активація процесів пероксидного окиснення ліпідів, одним з показників якого є ТБК-АП (табл. 1).

Інтоксикація карбофосом впродовж 10 днів призводить до збільшення вмісту ТБК-АП в 1,3 рази як у сироватці крові, так і в печінці щурів. При 20-ти денно-

Таблиця 1

**ВМІСТ ТБК-АКТИВНИХ ПРОДУКТІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ (мкмоль/л)
ТА В ПЕЧІНЦІ (мкмоль/кг) ЩУРІВ ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ КАРБОФОСОМ ($M \pm m$, $n=6$)**

Групи тварин	Сироватка крові			Печінка		
	терміни дослідження, діб					
	10-а	20-а	30-а	10-а	20-а	30-а
Інтактний контроль	0,95±0,04			8,65±0,27		
Уражені карбофосом	1,28±0,04*	2,17±0,14*	2,62±0,15*	11,42±0,38*	16,34±0,09*	15,73±0,56*

Примітка: * – вірогідні зміни між тваринами інтактного контролю та ураженими.

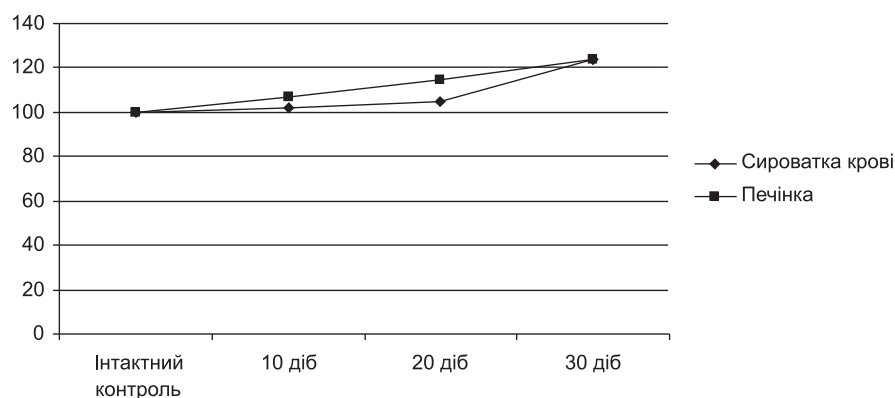


Рис. 1. Вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в сироватці крові та печінці щурів, уражених карбофосом, %.

му введенні карбофосу вміст даного показника збільшився у 2,3 рази в сироватці крові та в 1,9 рази у печінці уражених тварин. При тридцятиденному застосуванні токсиканта спостерігали збільшення вмісту ТБК-АП в 2,75 рази в сироватці крові, в печінці – 1,8 рази.

З літератури відомо [4], що поряд з активацією процесів ліпопероксидації відбувається підвищення активності процесів окиснювальної модифікації білків.

Виразних змін зазнав вміст 2,4-ДНФГ як у сироватці крові, так і в печінці уражених тварин. До кінця експерименту (на 30 добу) вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в сироватці крові на 22 % перевищував норму, а у печінці на 24 % виявився вищим за рівень інтактного контролю (рис. 1).

У сироватці крові вміст 2,4-ДНФГ основного характеру зростав повільно і досяг найвищого рівня на 30-у добу після ураження – 122 %. У печінці уражених тварин уже через 10 діб від початку отруєння вміст даного показника становив 120 %, через 20 діб – 132 % і в кінці експерименту – 149 % (рис. 2).

Виявлене збільшення вмісту 2,4-ДНФГ може свідчити про те, що в уражених щурів проходить процес руйнування клітинних мембран, яке проявляється в порушенні цілісності білкових структур. Це призводить до змін активності ферментів, порушення синтезу нуклеїнових кислот та накопичення в організмі токсичних продуктів метаболізму.

Активация процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білкових компонентів супрово-

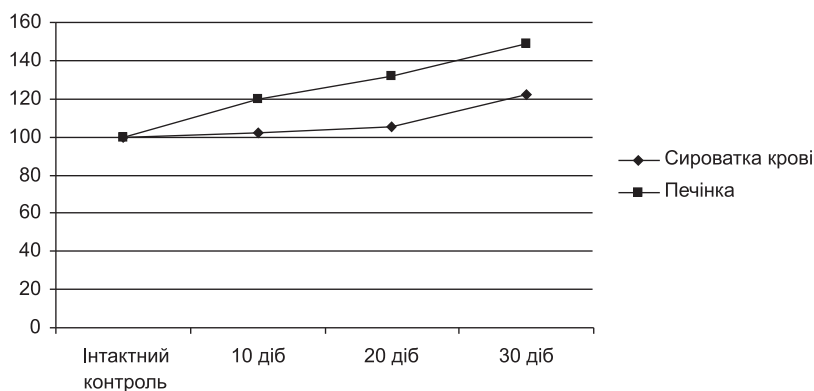


Рис. 2. Вміст 2,4-ДНФГ основного характеру в сироватці крові та печінці щурів, уражених карбофосом, %.

Таблиця 2

**ВМІСТ МСМ У СИРОВАТЦІ КРОВІ (у.од./л) ТА ПЕЧІНЦІ (у.од./кг) ЩУРІВ
ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ КАРБОФОСОМ ($M \pm m$, $n=6$)**

Групи тварин	Сироватка крові			Печінка		
	терміни дослідження, діб					
	10-а	20-а	30-а	10-а	20-а	30-а
Інтактний контроль	0,99±0,10			0,47±0,03		
Уражені карбофосом (СМ ₁)	1,39±0,06*	1,63±0,03*	1,79±0,02*	0,84±0,06*	1,49±0,02*	2,27±0,02*
Інтактний контроль	1,11±0,08			0,48±0,03		
Уражені карбофосом (СМ ₂)	1,13±0,1	1,67±0,04*	1,70±0,11*	0,88±0,06*	1,52±0,05*	2,29±0,04*

Примітка: * – вірогідні зміни між тваринами інтактного контролю та ураженими.

Таблиця 3

**АКТИВНІСТЬ АХЕ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ (мкг/хв) ЩУРІВ
ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ КАРБОФОСОМ ($M \pm m$, $n=6$)**

Групи тварин	Сироватка крові			Печінка		
	терміни дослідження, діб					
	10-а	20-а	30-а	10-а	20-а	30-а
Інтактний контроль	288,0±13,9			177,83±2,26		
Уражені карбофосом	188,5±9,2*	162±8,3*	158,5±7,5*	152,56±6,12*	132,33±5,77*	104,83±4,41*

Примітка: * – вірогідні зміни між тваринами інтактного контролю та ураженими.

джується нагромадженням в організмі молекул середньої маси – маркерів ендогенної інтоксикації.

Встановлено, що через 10 днів після ураження карбофосом у сироватці крові тварин в 1,4 рази збільшувався вміст СМ₁ (фракція, в якій переважають ланцюгові амінокислоти), вміст фракції СМ₂ (переважають ароматичні амінокислоти) зазнав менш значних змін. Через 20 днів після ураження карбофосом збільшувався вміст СМ₁ в 1,7 рази та в 1,5 рази підвищився вміст фракції СМ₂. До кінця експерименту (30 днів) вміст СМ₁ фракції у сироватці крові збільшився в 1,8 рази, вміст фракції СМ₂ – в 1,5 рази. Очевидно, це є наслідком деградації та деструкції білкових молекул в організмі уражених щурів.

Паралельно ми вивчили вміст СМ₁ та СМ₂ у печінці тварин, уражених карбофосом.

Отримані результати показали, що вміст досліджуваних фракцій у печінці зазнав практично однакових змін: на 10 добу експерименту вміст СМ₁ та СМ₂ підвищився в 1,8 рази, на 20-ту добу – в 3,2 рази, на 30-ту добу підвищився вміст даних показників відносно інтактного контролю в 4,8 рази (табл. 2).

З літератури відомо [11], що карбофос є нейротоксичною сполукою. Його дія спрямована на пригнічення активності АХЕ, яка бере участь у гідролізі ацетилхоліну. Інактивація даного ензиму призводить до накопичення ацетилхоліну і надмірного збудження холінергетичних систем. В інтоксикованих карбофосом щурів ми спостерігали зміни в активності АХЕ. При десятиденному введенні карбофосу даний показник у сироватці крові зменшився в 1,5 рази, в печінці в 1,2 рази, при двадцятиденному – в 1,8 рази, в печінці в 1,3 рази та в 1,8 рази в сироватці крові та

в 1,7 рази в печінці при тридцятиденному введенні карбофосу (табл. 3). Виявлений нами пригнічувальний вплив карбофосу на активність АХЕ підтверджує нейротоксичність даного токсиканта, що може призвести до тяжкого ураження нервової системи.

Таким чином, ураження щурів карбофосом протягом 30 днів викликає пригнічення активності АХЕ, що може слугувати індикатором для визначення ступеня ураження організму даним токсикантом.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що ендогенна інтоксикація, зумовлена надходженням в організм карбофосу, супроводжується активацією процесів перекисного окиснення ліпідів, окиснювальної модифікації білків, зростанням вмісту молекул середньої маси та зменшенням активності ацетилхолінестерази в досліджуваних тканинах. Такі глибокі метаболічні порушення потребують адекватних засобів корекції для зняття симптомів інтоксикації, що і буде наступним етапом наших досліджень.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Валевский С. Ф. К диагностике нейротоксических заболеваний / С. Ф. Валевский, Н. Д. Шинкаренко, Н. Г. Дубовская, И. С. Борисова // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – № 2. – С. 77-79.
2. Воронко Е. А. Острые отравления фосфорорганическими веществами / Е. А. Воронко // Медицина. – 2004. – № 4. – С. 26-29.

3. Губський Ю. І. Біохімічні та молекулярно-біологічні механізми хімічної загибелі клітин за ураження високотоксичними ксенобіотиками / [Ю. І. Губський, Є. Л. Левицький, О. В. Задорина та ін.] // Буков. мед. вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 76-77.
4. Дубініна О. Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків / О. Ю. Дубініна // Медична хімія. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 5-12.
5. Ермолаева Е. Активность эстераз, состояние тромбоцитарного звена гемостаза, нейромышечной проводимости и морфологические изменения при моделировании хронической пероральной интоксикации веществом типа Vx / [Е. Е. Ермолаева, Н. В. Гончаров, А. С. Радилов и др.] // Токсикол. вести. – 2008. – № 3. – С. 2-8.
6. Ермолаева Е. Е. Ингибирование эстераз и функциональная активность макрофагов, тромбоцитов, эндотелия при низкоуровневом воздействии диизопропилфторфосфата и фосфакола / Е. Е. Ермолаева, Н. В. Гончаров, А. С. Радилов // Токсикол. вести. – 2008. – № 2. – С. 2-7.
7. Жмілько П. Г. Токсичність і антихолінестеразна дія деяких фосфоорганічних пестицидів у залежності від їх сорбції на протеїнах сироватки крові / П. Г. Жмілько, Ю. І. Лобода // Современные проблемы токсикол. – 2003. – № 1. – С. 18-21.
8. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте: [метод. рекоменд.] / Под ред. проф., акад. РАМН П. И. Сидорова. – Архангельск, 2002. – 84 с.
9. Лапач С. Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
10. Лушак В. І. Показники оксидативного стресу. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Лушак, Т. В. Багнюкова, О. В. Лушак // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 26. – С. 136-141.
11. Мышкин В. А. Влияние актопротекторов на перекисное окисление липидов и состояние мембран эритроцитов у крыс при отравлении карбофосом / [В. А. Мышкин, И. А. Гуляева, Р. Б. Ибатуллина и др.] // Пат. физиол. и эксперим. Терапия. – 2004. – № 3. – С. 10-11.
12. Николайчик В. В. «Средние молекулы» – образование и способы определения / [В. В. Николайчик, В. В. Кирковский, В. М. Маин и др.] // Лаб. дело. – 1989. – № 8. – С. 31-33.

УДК 543.393-06:[616.15+616.36]-008.6-092.9**Л. А. Бойко, Л. С. Фира, П. Г. Лихацкий****РАЗВИТИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС, ПОРАЖЕННЫХ КАРБОФОСОМ**

В эксперименте на белых крысах установлено, что тридцатидневное поступление в организм карбофоса в дозе 20 мг/кг массы тела приводит к активации процессов липопероксидации и окислительной модификации белка, что вызывает углубление эндогенной интоксикации. Доказательством этого служит повышение содержания молекул средней массы в сыворотке крови и печени пораженных крыс. Одновременно выявлено угнетающее действие карбофоса на активность ацетилхолинэстеразы, которая может быть маркером нейротоксичности данного ксенобиотика.

Ключевые слова: карбофос; липопероксидация; окислительная модификация белка; молекулы средней массы; ацетилхолинэстераза

UDC 543.393-06:[616.15+616.36]-008.6-092.9**L. A. Boyko, L. S. Fira, P. G. Lykhatskiy****DEVELOPMENT OF THE ENDOGENOUS INTOXICATION ON THE RATS AFFECTED WITH CARBOPHOS**

In the experiment on the white rats it was determined that thirty days consumption into organism of carbophos in the dose of 20 mg/kg on the body weight leads to the activation of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins what extending intensification of the endogenous intoxication. These facts were confirmed by the increasing of the content of the molecules of the average weight in the serum and liver of rats after affecting. At the same time it was revealed the inhibitory effect of carbophos on the activity of acetylcholinesterase that can be the marker of the neurotoxicity of this xenobiotic.

Key words: carbophos; lipid peroxidation; oxidative modification of proteins; molecules of the average weight; acetylcholinesterase

Адреса для листування:

46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1.

Тел. 0352-52-44-92.

Тернопільський державний медичний університет

Надійшла до редакції 20.01.2014 р.