

УДК 612.014.46+546.171.5

Ш.К. БАХТИЯРОВА

## СОСТОЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН У КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЕСТИЦИДА «УРАГАН-ФОРТЕ»

(Институт физиологии человека и животных ЦБИ МОН РК, Алматы)

Пестицид «Ураган форте» при длительном воздействии оказывает негативный эффект на состояние клеточных мембран, повышая уровень перекисного окисления липидов как в супернатантах гомогената печени, так и гемолизате эритроцитов, о чем свидетельствует повышенное накопление промежуточных (диеновые коньюгаты) и конечных (малоновый диальдегид) продуктов липопероксидации.

Высокие уровни частично восстановленных форм кислорода могут вызвать функциональные и морфологические изменения в клетках [1,2,3,4]. Перекисное окисление липидов (ПОЛ), являясь нормальным метаболическим процессом, широко представленным во всех органах и тканях, существует в регуляторных функциях клетки [5,6] и контролируется высокоеффективной антиоксидантной системой, способствующей поддержанию реакций окисления на минимально стационарном уровне [7].

Известно, что процесс активации ПОЛ является универсальными неспецифическим звеном патогенетических механизмов в реализации различного рода внешних, в том числе экстремальных воздействий [8]. При этом, существенное изменение интенсивности ПОЛ в различных органах указывает на повреждение антиоксидантной системы клеток. Установлено, что процессы ПОЛ активируются при многих патологических состояниях [9,8], а липидные перекисные соединения оказывают дестабилизирующее влияние на обменные процессы в клетках, приводят к изменению состава и проницаемости клеточных мембран, изменению белок-липидных взаимодействий и нарушению транспорта веществ через мембранны.

Окислительный стресс, который часто возникает в результате неравновесного антиоксидантного статуса человека, вовлекается в ряд заболеваний таких как рак, атеросклероз, сердечно-сосудистые заболевания, старение, снижение иммунитета и др. [10,11,12,13,14]. Вероятно, на некоторых стадиях течения болезни в процесс повреждения ткани включаются свободно-радикальные реакции.

При окислительном стрессе окисленные метаболиты оказывают токсические эффекты из-

за увеличения их продукции или изменения клеточного механизма защиты [15]. Для выяснения возможного участия процессов липопероксидации в повреждении биологических мембран при действии пестицида были проведены наши исследования по изучению процессов перекисного окисления липидов в микросомах печени крыс.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах *in vivo* использовано 48 взрослых лабораторных крыс-альбиносов обоего пола массой 250-290 г.

Проведены 2 серии экспериментов. 1-я серия – контрольная. Во 2-й серии крысам ежедневно в течение 2-х недель вводили пестицид «Ураган-форте» (УФ, 0,01 мг на 100 г массы тела).

Во всех сериях опытов определяли индивидуально-типологические особенности (ИТО) высшей нервной деятельности (ВНД) крыс по методике «открытое поле» (ОП) – врожденное поведение [16] и резистентность к стрессу по методике «эмоциональный резонанс» (ЭР) [17] до и после стрессового воздействия. На основании полученных данных крыс делили на 3 группы, условно обозначенных как «сильный», «промежуточный» и «слабый» типы.

После установления ИТО ВНД крыс брали на опыты для определения состояния клеточных мембран. В острых опытах под нембуталовым наркозом (4 мг/100 г массы тела, внутримышечно) из общей сонной артерии брали кровь, свертывание которой предотвращали гепарином (500 МЕ/кг в/в).

Сосудистую систему животных промывали охлажденным до 6°C физиологическим раствором. После центрифugирования крови в течение



Рис. 1. Изменение содержания продуктов липопероксидации: диеновых коньюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в микросомах печени (печ, нмоль/мг белка) и эритроцитах (эр, нмоль/мл эритроцитов) у крыс «сильного» (1), «промежуточного» (2) и «слабого» (3) типов ВНД после интоксикации пестицидом

10 мин при 1000г эритроциты дважды промывали средой инкубации, содержащей 150 mM NaCl, 5 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH – 7.4).

В проведенных наблюдениях также получали супернатанты печени, для чего гомогенаты центрифугировали при 6000 g. В полученных супернатантах с помощью биуретовой методики определяли концентрацию общего белка.

Об уровне перекисного окисления липидов судили по содержанию конечных (малоновый диальдегид, МДА) и промежуточных (диеновые коньюгаты, ДК) продуктов пероксидации [18]. Концентрацию МДА определяли в супернатантах гомогенатов печени, а ДК – в супернатантах гомогенатов печени и в гемолизате эритроцитов. Также определяли каталазную активность в гемолизате эритроцитов и супернатантах гомогенатов печени [19,20].

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel и изменения параметров с учетом непарного критерия Фишера – Стьюдента считали достоверными при  $p \leq 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При 2-хнедельной затравке крыс пестицидом у них отмечалось выраженное увеличение интенсивности липопероксидации в тканях. Так, содержание диеновых коньюгатов в гемолизате эритроцитов у крыс «сильного», «промежуточного» и «слабого» типов ВНД, равное в контроле 9,82±0,48, 10,50±0,68 и 11,20±0,74 нмоль/мл эритроцитов, повышалось по сравнению с контролем

на 11,7%, 14,9% и 16,8% (во всех случаях  $p < 0,01$ ), а в микросомах печени – с контрольных 0,32±0,01, 0,35±0,02 и 0,37±0,02 нмоль/мг белка соответственно на 12,5% ( $p < 0,01$ ), 8,6% ( $p < 0,05$ ) и 13,5% ( $p < 0,001$ ), что показано на рисунке 1. Концентрация малонового диальдегида в микросомальной фракции гомогенатов печени под влиянием длительного поступления в организм крыс пестицида повышалась с контрольных величин, равных у животных соответствующих типов 0,24±0,01, 0,25±0,01 и 0,35±0,02 нмоль/мг белка на 20,8%, 24,0% и 20,0% (во всех случаях  $p < 0,01$ ), что видно из рисунка 1.

В контрольных условиях активность антиоксидантного фермента каталазы в клетках красной крови у крыс «сильного», «промежуточного» и «слабого» была равна 44,55±2,71, 42,58±2,21 и 38,38±1,92 г H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мл эритроцитов, а в микросомной фракции печени – соответственно 0,42±0,02, 0,43±0,02 и 0,42±0,01 г H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг белка. На фоне развития оксидативного стресса, вызванного длительным поступлением в организм крыс пестицида, отмечалось истощение собственных защитных антиоксидантных ферментов. При этом активность каталазы эритроцитов понижалась у животных соответствующих типов на 7,4%, 8,9% и 10,8% ( $p < 0,05$ ), а микросом печени – на 9,5% ( $p < 0,05$ ), 18,6% ( $p < 0,01$ ) и 23,8% ( $p < 0,001$ ), что показано на рисунке 2.

Анализ полученных данных свидетельствует, что действие пестицида сопровождается нарушением мембран клеток. Это позволяет предположить, что одним из проявлений неблагоприятного действия токсиканта является изменение

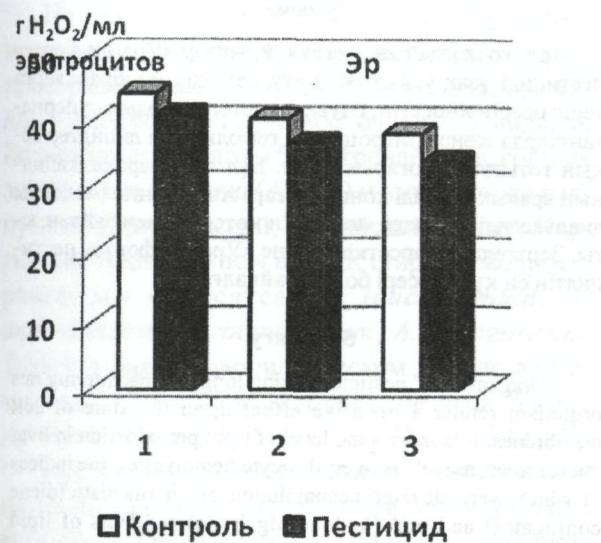


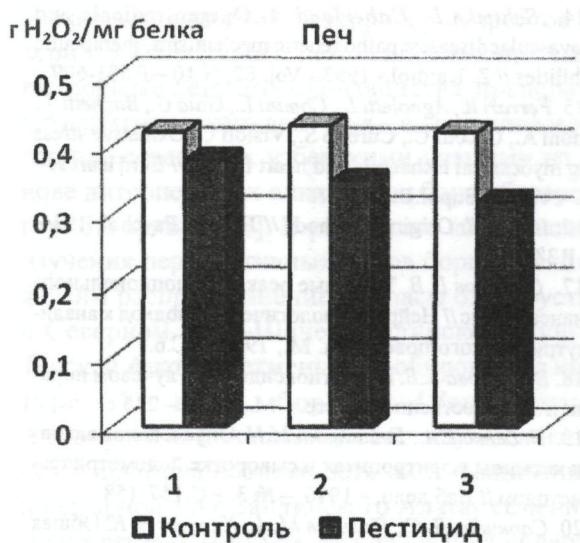
Рис. 2. Активность каталазы эритроцитов (эр, г  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{мл}$  эритроцитов) и микросом печени (печ, г  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{мг белка}$ ) у крыс «сильного» (1), «промежуточного» (2) и «слабого» (3) типов ВНД при 2-хнедельном поступлении per os пестицида

проницаемости биологических мембран на всех уровнях организма и это в свою очередь влияет на функциональные свойства клеток и тканей и приводит к возникновению патологических процессов во всех жизненно важных органах.

Результаты наших исследований показали, что свободно-радикальное окисление является общим процессом, лежащим в основе ответных реакций организма на действия экстремальных факторов на клеточном уровне. Увеличение уровня свободных радикалов, как правило, сопровождается снижением клеточных антиоксидантов, что и приводит к окислительному стрессу. При этом необходимо отметить, что окислению подвергаются как липидные, так и белковые компоненты биологических мембран. Следовательно, в результате окислительного стресса под действием физических и химических агентов происходят метаболические изменения в органах и системах организма, структурные и функциональные изменения клеточных компонентов. Таким образом, как показали проведенные эксперименты, 2-хнедельная затравка пестицидом крыс приводила к изменениям ПОЛ. Так показано повышение уровня перекисного окисления липидов, снижение активности каталазы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Martinez-Cayuela M. Oxygen free radicals and human disease // Biochimie.- 1995.- Vol.77, N 3 – P.147-161.



2. Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. Итоги науки и техники. Сер.биофизика. М.: ВИНИТИ,- 1986.- Т.18.- 135 с.

3. Urban T., Hurbain I., Urban M. e.a. Oxidants and antioxidants. Biological effects and therapeutic perspectives // Ann. Chir.- 1995. – Vol.49, N 5. – P.427-434.

4. Pinkus R., Weiner L.M., Daniel V. Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF-кB, and glutathione S-transferase gene expression// J.Biol.Chem.- 1996.- Vol.271, N 23 – P.13422-13429.

5. Sies H. Role of reactive oxygen species in biological processes// Klin. Wochenschr.- 1991.- Vol.69, N 21-23. – P.965-968.

6. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.

7. Lepock J.R. Involvement of membranes in cellular responses to hyperthermia // Radiat.Res.- 1982.- Vol.92, N 3. – P. 433-438.

8. Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С. Основы радиационной биофизики. – М.: Изд-во МГУ, 1982. – 304 с.

9. Владимиров Ю.А., Оленев В.И., Сусловы Т.Б. и др. Механизмы перекисного окисления липидов и его действие на биологические мембранны. / Итоги науки и техники. Сер.биофизика. М.: ВИНИТИ.- 1975.- Т.5. – С.56-117.

10. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view // Nutr.Rev.- 1994.- Vol.52, N 8 Pt 1. – P.253-265.

11. Henriksen T., Endresen M. Oxidative stress and antioxidants // Tidsskr.Nor.Lægeforen. – 1994.- Vol.114, N 3.- P.328-330.

12. Rice-Evans C.A., Diplock A.T. Current status of antioxidant

13. Kendler B.S. Free radicals in health and disease: implications for primary health care providers // Nurse Pract.- 1995.- Vol. 20, N 7 – P. 29-36.

14. Schimke I., Haberland A. Oxigen radicals and cardiovascular diseases: pathogenetic mechanisms, therapeutic possibilities // Z. Kardiol.- 1993.- Vol. 82, N 10 – P.601-609.

15. Ferrari R., Agnoletti L., Comini L., Gaia G., Bachetti T., Cargnoni A., Ceconi C., Curello S., Visioli O. Oxidative stress during myocardial ischaemia and heart failure // Eur. Heart J. – 1998. – Vol.19, Suppl.B.- P.2-11.

16. Hall C.S. Original methods // J.Comp.Psychol. 1934. V.18. P.385.

17. Симонов П.В. Условные реакции эмоционального резонанса у крыс // Нейрофизиологический подход к анализу внутривидового поведения. М., 1976. – С.6.

18. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. – М., 1975. – 235 с.

19. Бабенко Г.А., Гойнацкий М.Н. Определение активности каталазы в эритроцитах и сыворотке йодометрическим методом // Лаб.дело. – 1976. – № 3. – С.157-158

20. Саркисов Д. С., Пальцев М. А., Хитров Н. К. Общая патология человека. М.: Медицина, 1997. 356 с.

### Резюме

In vivo жағдайында егеуқұрықтар «Ураган форте» пестициді үзак уақыт өсеретінде, мембраналарға теріс өсерін көрсетіп, бауыр гомогенаттардың супернатанттарда және эритроциттер гемолизатта липидтер асқын тотығуын жоғарылатады. Бұл липопероксидацияның аралық (диенде конъюгаттар) және соңғы (малонды диальдегиді) өнімдер мөлшерін көтерілуімен байланысты. Зерттелген көрсеткіштеріне «Ураган-форте» пестицидтің ең күшті өсері болуы байқалған.

### Summary

“Uragan-forte” pesticide during long-lasting entering rats organism render a negative effect upon the state of cell membranes. It increases the level of lipid peroxidation in liver microsomes, as well as in erythrocyte hemolysates, the indices of which were elevated accumulation of intermediate (diene conjugates) and end (malondialdehyde) products of lipid peroxidation