

УДК: 577.15:612.176:632.95

© Салига Ю.Т., Росаловський В.П., 2012

ДО ВИВЧЕННЯ ДЕЯКИХ ПАРАМЕТРІВ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ ЩУРІВ ЗА ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ХЛОРПІРИФОСУ

Салига Ю.Т., Росаловський В.П.

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Салига Ю.Т., Росаловський В.П. До вивчення деяких параметрів системи антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів у крові щурів за токсичної дії хлорпірифосу // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 94-95.

Проведено дослідження впливу хлорпірифосу – небезпечної фосфорорганічної сполуки на ключові параметри антиоксидантної системи та стан перекисного окиснення ліпідів у крові щурів. Інтотоксикацію тварин хлорпірифосом викликали його одноразовим введенням внутрішньоочеревинно, а досліджувані показники прослідковували у динаміці через 1, 3, 6 і 10 діб. Встановлено, що хлорпірифос викликає достовірне зростання ТБК-активних продуктів у плазмі крові та зниження активності супероксиддисмутази в еритроцитах дослідних груп тварин.

Ключові слова: хлорпірифос, супероксиддисмутаза, каталаза, ТБК-активні продукти, антиоксидантна система, щурі лабораторні

Салига Ю.Т., Росаловський В.П. К изучению некоторых параметров системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов в крови крыс при токсическом действии хлорпирифоса // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 94-95.

Проведено исследование влияния хлорпирифоса – опасного фосфорорганического соединения на ключевые параметры антиоксидантной системы и состояние перекисного окисления липидов в крови крыс. Интоксикацию животных хлорпирифосом вызвали его одноразовым введением внутривентрально, а исследуемые показатели изучали в динамике через 1, 3, 6 и 10 суток. Установлено, что хлорпирифос вызывает достоверный рост ТБК-активных продуктов в плазме крови и снижение активности супероксиддисмутази в эритроцитах экспериментальной группы животных.

Ключевые слова: хлорпирифос, супероксиддисмутаза, каталаза, ТБК-активные продукты, антиоксидантная система, крысы лабораторные

Salyha Y.T., Rosalovsky V.P. To the study of some parameters of antioxidant defense system and lipid peroxidation in blood of rats under the toxic influence of chlorpyrifos // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 94-95.

The effect of chlorpyrifos - a dangerous organophosphorus compound on key parameters of antioxidant status and lipid peroxidation in the blood of rats was studied. Animal intoxication was elicited by one-off injection of chlorpyrifos intraperitoneally. Parameters were studied in the dynamics of 1, 3, 6 and 10 days. It was found that chlorpyrifos caused reliable increase of TBA-active products in blood plasma and decrease of superoxidodismutase activity in erythrocytes of the experimental group of animals.

Key words: chlorpyrifos, superoxidodismutase, catalase, TBA-active products, antioxidant system, laboratory rats

Хлорпірифос є представником фосфорорганічних сполук, що в значних масштабах застосовується у якості основної діючої речовини багатьох інсектицидів. Щороку у світі реєструють тисячі випадків отруєння цими препаратами, в тому числі з летальними наслідками [1, 5]. До недавня вважалося, що ключовим і практично єдиним механізмом токсичності хлорпірифосу є його здатність інгібувати ензими холінестеразного ряду, спричиняючи, зокрема, розлади синаптичної передачі. Проте в останні роки з'являється все більше робіт, які доводять існування інших механізмів негативної дії цієї сполуки на структуру організму [6–8]. Одним з таких може бути явище оксидативного стресу, яке виникає при ураженні хлорпірифосом. У свою чергу відомо, що оксидативний стрес може бути одним із факторів, що призводять до ряду нейродегенеративних розладів, включаючи аміотрофічний латеральний склероз, хвороби Паркінсона і Альцгеймера, пошук шляхів лікування яких є надзвичайно важливим для сучасної експериментальної медицини і біології. Виходячи з цього, метою нашої роботи було дослідити як змінюється активність деяких індикативних показників системи антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів у крові лабораторних щурів через окремі проміжки часу після їх інтоксикації вище згаданого речовиною.

Матеріали і методи. Дослідження були проведені на 40 білих нелінійних лабораторних дорослих щурах (самцях) масою від 180 до 240 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні з не-

обмеженим доступом до питної води. Формування груп тварин проводили за принципом аналогів з урахуванням їх маси. Тваринам дослідної групи одноразово внутрішньоочеревинно вводили хлорпірифос з розрахунку 30 мг/кг живої ваги. Контрольним тваринам замість препарату вводили аналогічний об'єм фізіологічного розчину. Забій проводили методом декапітації під легким ефірним наркозом на 1–пу, 3–тго, 6–ту та 10–ту доби експерименту. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Стразбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Після відділення плазми еритроцити тричі промивали фізіологічним розчином. Гемолізати готували шляхом трикратного заморожування-відтаювання водних суспензій еритроцитів з подальшим їх центрифугуванням при 8000g впродовж 15 хв. Активність супероксиддисмутази (СОД, 1.15.1.1) визначали за методом Дубініної та ін. [2], який ґрунтується на відновленні супероксидними аніонами, що утворюються між феназинметасульфатом і NADPH, нітросинього тетразолію до нітроформазону. Вимірювання інтенсивності поглинання світла продуктом відновлення проводили на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм. Визначення каталазної (КАТ, 1.11.1.6) активності проводили за методом Королюк,

який базується на аналізі ступеня розкладу цим ферментом пероксиду водню і його здатністю утворювати з солями молібдату кольоровий комплекс з максимальним поглинанням світла при довжині хвилі 410 нм [4]. Визначення вмісту ТБК-активних продуктів проводили за методом Коробейникової [3], в основі якого лежить реакція між малоновим днальдегідом (МДА) і тиобарбітуровою кислотою (ТБК), яка при високій температурі і кислому середовищі протікає з утворенням комплексу, що містить одну молекулу МДА і дві молекули ТБК.

Одержані результати обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми OriginPro 8 з використанням *t*-критерію Стьюдента. Вірогідно різним вважалися результати при $P < 0,05$.

Результати досліджень. Відомо, що СОД є одним з найважливіших ензимів антиоксидантної системи організму. Цей ензим здійснює реакцію дисмутації супероксидних аніон-радикалів і перетворює їх на молекули пероксиду водню, які є менш реакційноздатними. Отримані нами дані (рис.1) свідчать про зниження активності СОД у тварин дослідної групи протягом всього періоду експерименту порівняно до контролю. Слід, однак відзначити, що найвагомніше – майже на 50% зниження активності СОД спостерігалося через 3, 6 і 10 діб після введення тваринам токсину. Така динаміка, очевидно, може бути пояснена боротьбою організму з оксидативним стресом, який як відомо виникає у тканинах організму одразу після інтоксикації хлорпірифосом і є найінтенсивнішим протягом однієї-двох діб.

Каталаза каталізує реакцію в ході якої відбувається знешкодження пероксиду водню, що утворюється в результаті реакції дисмутації супероксидного радикалу і її активність мала б пропорційно змінюватись до активності СОД. Хоча достовірно вірогідних різниць такого характеру у наших дослідженнях виявлено не було, спостерігалась тенденція до незначного зростання активності цього ензиму у всі дослідні періоди порівняно до контролю (рис.2).

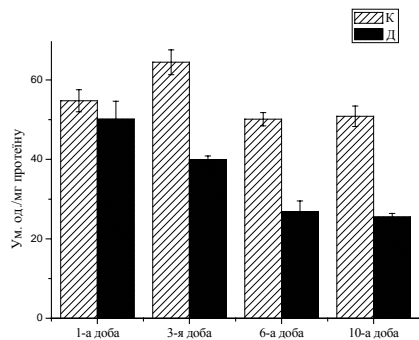


Рис.1 Активність СОД в еритроцитах крові щурів за дії хлорпірифосу

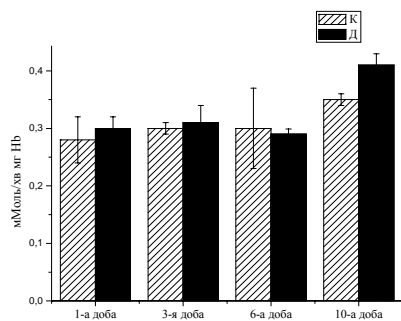


Рис.2 Активність каталази в еритроцитах щурів за дії хлорпірифосу

Аналізуючи динамічну картину поведінки досліджених нами ензиматичних активностей у часовому

розрізі, очевидно, можна говорити про певний дефіцит резервів системи антиоксидантного захисту організму внаслідок токсичної дії на нього хлорпірифосу. Це цілком логічно можна пов'язати з інтенсифікацією процесів ПОЛ, на що вказують дані про вміст у плазмі крові ТБК-активних продуктів (рис.3). У всіх дослідних групах спостерігали достовірне зростання цього показника, яке носило обернено пропорційний характер до активності СОД.

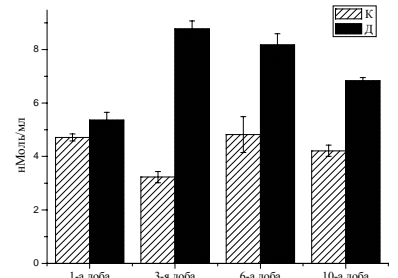


Рис.3 Вміст ТБК-активних продуктів в плазмі крові щурів за дії хлорпірифосу

Висновки:

1. Хлорпірифос, введений тваринам у дозі 30 мг/кг приводив до активації процесів перекисного окислення, що виражалося, зокрема, у зростанні вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі крові дослідних тварин. Одночасно має місце зниження активності СОД у тварин дослідної групи протягом всього періоду досліджень.

2. Вираженість вказаних процесів є найбільшою в період з 3-ої до 6-ої доби експерименту, що свідчить про дефіцит ресурсів системи антиоксидантного захисту внаслідок їх виснаження у перші доби після інтоксикації організму хлорпірифосом.

Перспективи подальших досліджень. Результати даної роботи вказують на доцільність поглиблення досліджень впливу хлорпірифосу на антиоксидантну систему організму.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Візла В.В., Салига Ю.Т. Проблеми біологічної безпеки застосування пестицидів в Україні // Вісник аграрної науки. - 2011. - № 1. - С.24–27.
2. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активність и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело.- 1983.- № 10.- С. 30–33.
3. Коробейникова Э.Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК // Лаб. дело.- 1989.- №7.- С. 8-10.
4. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И. Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело.- 1988.- № 1.- С. 16–18.
5. Салига Ю.Т. Потенційна нейротоксичність хлорпірифосу і способи її вивчення // Медична хімія. - Том 11, № 4. - 2009. - С. 69–72.
6. Caughlan A., Newhouse K., Namgung U., Xia Z. Chlorpyrifos induces apoptosis in rat cortical neurons that is regulated between p38 and ERK/JNK MAP kinases // Toxicol. Sci.- 2004.- Vol. 78.- N1.- P. 125–134.
7. Eyer F., Roberts D.M., Buckley N.A. et al. Extreme variability in the formation of chlorpyrifos oxon (CPO) in patients poisoned by chlorpyrifos (CPF) // Biochem. Pharmacol.- 2009.- Vol. 78.- N 5.- P. 531–537.
8. Slotkin T.A. Developmental cholinotoxicants: nicotine and chlorpyrifos // Environ. Health Perspect. 1999. Vol. 107. N 1. P. 71–80.

Надійшла 13.06.212 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко