

ПАТОМОРФОЛОГІЯ

© Бойко Л. А., Фіра Л. С., Лихацький П. Г., Васишин Н. А.

УДК 548.393 – 06: [611 – 08.51+611.36 – 018.1] – 0929

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

ПРОНИКНІСТЬ ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ТА ЕРИТРОЦИТІВ В ДИНАМІЦІ УРАЖЕННЯ ЩУРІВ КАРБОФОСОМ

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

(м. Тернопіль)

Дана робота є фрагментом планової наукової теми кафедри медичної біохімії та фармакології Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського «Біохімічні механізми токсичності нано-частинок різної природи та інших антропогенних та біогенних токсикантів в біологічних системах», № держ. реєстрації 0112U000542.

Вступ. Забруднення довкілля ксенобіотиками збільшує ризик контакту людини з токсичними речовинами, які проявляють пошкоджувальну дію на різні органи та системи організму. До постійного фактору екологічного забруднення відносяться фосфорорганічні сполуки [1,3]. Насичення довкілля потенційно – небезпечними токсичними речовинами призводить до зростання числа патологій, які зумовлені їх впливом. Потрапляння до організму фосфорорганічних сполук призводить до його загальної інтоксикації та утворення значної кількості ендогенних токсинів, які разом з екзогенними ксенобіотиками чинять токсичний вплив на мембрани клітин [2,8].

Одним із важливих маркерів ступеня токсичних уражень є збільшення проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів [5].

Виходячи з цього, **метою** даного дослідження було встановити ступінь проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів в динаміці ураження тварин карбофосом.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведені на білих щурах масою тіла 175 -200 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію ДВНЗ «Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського». Виконували їх згідно із Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна 2001) [9] та Закону України «Про захист тварин від жорстокої поведінки» (2006). Тварини були розділені на чотири групи: 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 цільну кров, сироватку крові та печінку тварин. Активність амінотрансфераз (АлАт, АсАТ) визначали в реакції з 2,4 – динітрофенілгідразином [10], активність лужної фосфатази з молібдатом амонію [1], еритроцитарний індекс інтоксикації за відсотком проникності еритроцитарної мембрани [11].

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за допомогою методу «Statistika 6,0» з використанням критерію Стюдента [6].

Результати досліджень та їх обговорення.

Отримані результати підтверджують токсичний вплив карбофосу на організм тварин. Після отруєння щурів карбофосом відмічається підвищення активності амінотрансфераз в сироватці крові протягом усього терміну дослідження (**табл. 1**).

З **таблиці 1** видно, що активність АлАТ при десятиденному введенні карбофосу в сироватці крові збільшується в 1,3 раза, в печінці зменшується в

Таблиця 1

Активність АлАТ у сироватці крові (мкмоль/л*год) та печінці (мкмоль/кг*год) щурів за умов ураження карбофосом (M±m, n=6)

Групи тварин	Сироватка крові			Печінка		
	Терміни дослідження, доби					
	10-а	20-а	30-а	10-а	20-а	30-а
Інтактний контроль	1,17±0,01			2,17±0,01		
Уражені карбофосом	1,56 ± 0,01*	2,04 ± 0,04*	2,37 ± 0,03*	2,10 ± 0,08	1,82 ± 0,02*	1,27 ± 0,03*

Примітка: * - вірогідні зміни між тваринами інтактного контролю та ураженими

Таблиця 2
Активність АсАТ у сироватці крові (мкмоль/л*год)
та печінці (мкмоль/кг*год) щурів за умов ураження
карбофосом ($M \pm m$, $n=6$)

Групи тварин	Сироватка крові			Печінка		
	Терміни дослідження, доби					
	10-а	20-а	30-а	10-а	20-а	30-а
Інтактний контроль	0,78 ± 0,04			3,68 ± 0,25		
Уражені карбофосом	0,92 ± 0,07	1,34 ± 0,17*	2,32 ± 0,12*	3,14 ± 0,16	2,65 ± 0,08	2,53 ± 0,04

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

Таблиця 3
Активність лужної фосфатази у сироватці крові
(ммоль/л) та печінці (ммоль/кг) щурів за умов
ураження карбофосом ($M \pm m$, $n=6$)

Групи тварин	Сироватка крові			Печінка		
	Терміни дослідження, доби					
	10-а	20-а	30-а	10-а	20-а	30-а
Інтактний контроль	14,23±0,80			12,61±0,37		
Уражені карбофосом	16,75 ± 0,58	18,87 ± 0,48*	21,31 ± 0,59*	10,99 ± 0,37*	7,20 ± 0,49*	5,85 ± 0,35*

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

Таблиця 4
Еритроцитарний індекс інтоксикації в крові (%)
щурів за умов ураження карбофосом ($M \pm m$, $n=6$)

Групи тварин	Терміни дослідження, доби		
	10-а	20-а	30-а
Інтактний контроль	28,46±0,66		
Уражені карбофосом	33,32±0,51*	35,64±0,73*	42,17±0,70*

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

1,1 раза, при двадцятиденній інтоксикації в сироватці крові даний показник збільшився в 1,7 раза, в печінці – зменшився в 1,2 раза, відповідно при тридцятиденному введенні в сироватці крові активність АлАТ збільшилась в 2 рази, в печінці зменшилась в 1,7 раза.

Аналогічні зміни спостерігались при визначенні активності АсАТ в сироватці крові та печінці уражених тварин (табл. 2).

Відмічено, що активність АсАТ в сироватці крові щурів збільшується при 10-ти денному введенні карбофосу в 1,2 раза, при 20-ти денному в 1,7 раза, при 30-ти денному в 3 рази порівняно з інтактними тваринами. В печінці ми спостерігали зменшення активності АсАТ. При 10-ти денному введенні її активність зменшилась в 1,2 раза, при 20-ти денному в 1,4 раза, відповідно при 30-ти денному в 1,5 раза,

відносно контролю. За інтоксикації тварин карбофосом зниження активності амінотрансфераз у печінці вказує на цитоліз гепатоцитів та зміну проникності плазматичних мембран, що призводить до виходу органоспецифічних ферментів у позаклітинний простір.

Ще одним маркером цитолізу гепатоцитів є лужна фосфатаза (ЛФ), підвищення активності якої в сироватці крові свідчить про розвиток запального процесу у печінці [1].

Активність даного ензиму після 10-ти денного введення карбофосу зросла в 1,2 раза, 20-ти денного ураження токсикантом в 1,3 раза, після 30-ти денної інтоксикації активність ЛФ зросла в 1,5 раза відносно інтактного контролю. У печінці ми спостерігали зменшення активності ЛФ (табл. 3).

Після 10-ти денного ураження карбофосом активність ЛФ зменшилась в 1,2 раза, при двадцятиденному – в 1,8 раза та при 30 -денному ураженні карбофосом – в 2,2 раза в порівнянні з інтактною групою тварин. Це підтверджує токсичність карбофосу та його негативний вплив на клітини печінки [4,7,12].

В ході експерименту ми досліджували проникність еритроцитарних мембран. Встановлено, що після ураження тварин карбофосом підвищується відсоток проникності мембрани еритроцитів, на що вказує збільшення еритроцитарного індексу інтоксикації (табл. 4).

Як видно з таблиці 4, при ураженні тварин карбофосом протягом 10-ти днів відсоток проникності еритроцитарних мембран підвищився на 4,9% відповідно до контрольної групи, при 20-ти денному введенні карбофосу ми спостерігали підвищення на 7,2% та на 13,7% при 30-ти денному застосуванні токсиканта.

Отримані результати свідчать про токсичний вплив карбофосу на еритроцитарні мембрани, що підтверджується зростанням відсотку їх проникності і може бути наслідком деструктивного впливу токсиканта на структурні компоненти клітинних мембран

Висновки. Проведені дослідження підтвердили токсичний вплив карбофосу на стан клітинних мембран в організмі уражених тварин, що супроводжується зміною їх проникності. На останнє вказує підвищення в сироватці крові активності амінотрансфераз та лужної фосфатази протягом 30 днів дослідження, а також зниження активності даних ензимів у печінці. Деструктивний вплив карбофосу та його метаболітів на еритроцити підтверджений збільшенням відсотку проникності еритроцитарних мембран. Отримані результати дадуть змогу використати дані показники як маркери проникності клітинних мембран за умов ураження фосфорорганічними сполуками.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи отримані результати в

умовах ураження тварин карбофосом, необхідним в подальшому є віднайти та застосувати ефективні схеми корекції виявлених порушень, використовуючи сучасні засоби з мембранопротекторними,

антиоксидантними та антигіпоксантами властивостями. Передбачається застосування за даних умов препарату мексідолу, що дасть можливість відкорегувати в організмі порушення після отруєння фосфорорганічними сполуками.

Література

1. Біологічна хімія: лабораторний практикум: навч. посібник для студ. вищ. навч. закл. 3-4 рівн. акредитації / за ред. Я. І. Гонського. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 288 с.
2. Воронко Е. А. Острые отравления фосфоорганическими веществами / Е. А. Воронко // Медицина. – 2004. – №4. – С. 26-29.
3. Жмілько П. Г. Токсичність і антихолінестеразна дія деяких фосфорорганічних пестицидів у залежності від їх сорбції на протеїнах сироватки крові / П. Г. Жмілько, Ю. І. Лобода // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – № 1. – С. 18-21.
4. Жолымбекова Л. Д. Окислительный метаболизм белков крови при острой интоксикации фосфором / Жолымбекова Л. Д., Адильбекова Д. А., Орманов Б. Н. // Матеріали конференції «Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині». – Одеса, 2007. – С. 42-45.
5. Іванюта Л. І. Ендогенна інтоксикація: причини виникнення, значення для клінічного застосування / Л. І. Іванюта, І. О. Баранецька // Здоровье женщины. – 2006. – Т. 25, № 1. – С. 252-256.
6. 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.
7. Лысенко В. И. Эффективность антигипоксантов в лечении острых отравлений фосфорорганическими соединениями / В. И. Лысенко, В. В. Гнатив // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – № 1. – С. 88-90.
8. Лупырь В. М. Состояние антиоксидантной системы и окислительно-восстановительных процессов при воздействии на организм синтетических фосфорсодержащих детергенов / В. М. Лупырь, В. В. Бобин, И. Л. Колесник // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: 36. Наук. ст. – Запоріжжя. 2003. – Вип. 11. – С. 265-272.
9. Науково – практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К.: Авіцена, 2002. – 136 с.
10. Покровский А. А. Биохимические методы исследования в клинике / А. А. Покровский [и др.]. – М.: Медицина, 1969. – 651 с.
11. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – №9. – С. 22-24.
12. The organophosphorus insecticideparathion changes properties of natural and model membranes / M. Suwalsky, P. Ramos, F. Villena [et al.] // Pestic. Biochem. and Physiol. – 2001. – Vol. 70, №2. – P. 74-85.

УДК 548.393 – 06: [611 – 08.51+611.36 – 018.1] – 0929

ПРОНИКНІСТЬ ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ТА ЕРИТРОЦИТІВ В ДИНАМІЦІ УРАЖЕННЯ ЩУРІВ КАРБОФОСОМ

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

Резюме. В експерименті на тваринах, уражених карбофосом, встановлено, що тридцятиденне застосування токсиканта призводить до цитолізу гепатоцитів, про що свідчить підвищення у сироватці крові активностей амінотрансфераз та лужної фосфатази. Токсичний вплив карбофосу на кров зумовлює збільшення проникності еритроцитарних мембран, маркером чого є підвищення еритроцитарного індексу інтоксикації.

Ключові слова: карбофос, амінотрансферази, плазматичні мембрани, гепатоцити, еритроцитарний індекс інтоксикації.

УДК 548.393 – 06: [611 – 08.51+611.36 – 018.1] – 0929

ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТОВ И ЭРИТРОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ПОРАЖЕНИЯ КРЫС КАРБОФОСОМ

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

Резюме. В эксперименте на животных, пораженных карбофосом, установлено, что тридцатидневное применение токсиканта приводит к цитолузу гепатоцитов, о чем свидетельствует повышение в сыворотке крови активностей аминотрансфераз и щелочной фосфатазы. Токсическое действие карбофоса на кровь приводит к увеличению проницаемости эритроцитарных мембран, маркером чего является повышение эритроцитарного индекса интоксикации.

Ключевые слова: карбофос, аминотрансферазы, плазматические мембраны, гепатоциты, эритроцитарный индекс интоксикации.

UDC 548.393 – 06: [611 – 08.51+611.36 – 018.1] – 0929

Permeability of the Plasmatic Membrane of Hepatocytes and Erythrocytes in the Dynamic of the Affected Rats with Carbophos

Boyko L. A., Fira L. S., Lyhatskiy P. G., Vasylyshyn N. A.

Abstract. *Introduction.* Organophosphates belong to the constant factor of environmental pollution. Their penetration into the human body leads to the general intoxication and formation of the numerous quantity of the endogenous toxins, which, together with exogenous xenobiotic act as toxic agents on the cell membranes.

One of the most important markers of the degree of the toxic affects is the increasing of the permeability of the plasma membrane of hepatocytes and erythrocytes [5]. Based on these, the aim of our study was to determine the permeability of the plasmatic membrane of hepatocytes and erythrocytes in the dynamics of in the dynamic of the affected rats with carbophos.

Materials and methods. Experiments were conducted on the white rats with the weight 175-200 g. The animals were kept on a standard food allowance at the vivarium of SHEI « I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Public Health of Ukraine». Animals were divided into four groups: the 1-st – intact control, the 2-nd – the animals affected with carbophos during 10 days; the 3-d – the animals affected with carbophos during 20 days and the 4-th – the rats affected with carbophos during 30 days. Carbophos was daily administrated intragastrically in the form of the aqueous solution of 20 mg/kg on the weight of a rat, that is equal 1/10 from the LD₅₀. On the 10-th, 20-th and 30-th day from the beginning of the carbophos administration rats were euthanized with sodium thiopental.

Results and discussion. After the affecting rats with carbophos it was observed the increasing of the aminotransferase activity in the serum during the all term of the researching.

The activity of AIAT has increased in 1,3 times in the serum and decreased in 1,1 times in the liver at the 10 days injection of carbophos. This index has increased in 1,7 times in the serum and decreased in 1,2 times in the liver at the 20 days injection of carbophos. According to the 30 days administration of carbophos the activity of ALAT has increased in 2 times in the serum and decreased in 1,7 times in the liver.

The same changes were observed in the determination of the activity of AsAT in the serum and liver of the affected animals. The reducing of the aminotransferases activity in the liver indicates on the cytolysis of the hepatocytes and the changes in the permeability of the membranes which leads to the releasing of the organ specific enzymes into the extracellular space.

Another marker of the hepatocyte cytolysis is alkaline phosphatase (ALP), the increasing of its activity in the serum indicates the development of the inflammatory process in the liver. The activity of this enzyme has increased in 1.2 times after the 10 days injection of carbophos, in 1,3 times (after the 20 days administration), in 1,5 times (after the 30 days administration) concerning to the intact control. The activity of ALP has decreased in the liver

In the experiment, we investigated the permeability of the erythrocyte membranes. Established, that the percentage of membrane permeability increased after the affecting of animals with carbophos on the other hand it was confirmed by the increasing of the erythrocyte index of intoxication. The percentage of the erythrocyte membrane permeability has increased on 4,9% concerning to the control group at the 10 days administration of carbophos, on 7,2% (at the 20 days administration) and 13,7% (at the 30 days administration).

Conclusion. The conducted researches confirmed the toxicity of carbophos influences on the state of the cell membranes in the affected animals, that is accompanied with the modification in their permeability.

The last one indicates the increasing of aminotransferase and alkaline phosphatase in the serum during 30 days of the investigation, as well as reducing the activity of these enzymes in the liver. Destructive effect of carbophos and its metabolites on erythrocytes confirmed by the increasing of percentage of the permeability of erythrocyte's membranes.

Key words: Carbophos, aminotransferases, plasmatic membranes, hepatocytes, erythrocyte index of intoxication.

*Рецензент – проф. Кліщ І. М.
Стаття надійшла 3. 04. 2014 р.*