

**Карманова Д. С.**

Оренбургский государственный медицинский университет

E-mail: daryakarmanova@mail.ru

## **ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ДОЗ ГЕРБИЦИДА 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ЖИВОТНЫХ**

Известна способность пестицидов при низкодозированном поступлении вызывать окислительный стресс, который может рассматриваться как один из центральных механизмов, лежащих в основе многих токсикологических последствий. Эти последствия будут усугубляться диетой с повышенной калорийностью, что является в настоящее время достаточно распространенным явлением.

Почвенный гербицид 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты диметиламмониевая соль (2,4-ДА), трансформирующийся до токсичных метаболитов, способен активировать перекисное окисление липидов (ПОЛ), что сопровождается нарушением транспортных и рецепторных белков клеточных мембран, снижением активности антиоксидантных систем.

Отмечено повышение концентрации малонового диальдегида в группе с совместным употреблением 2,4-ДА и жиров. В опытных группах отмечено снижение СОД в сыворотке крови примерно на 40%, каталазы на 15–45% относительно контрольной группы, при этом более выраженная депрессия каталазы наблюдалась у животных 3-й группы (2,4-ДА).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное поступление в организм малых доз 2,4-ДА сопровождается развитием окислительного стресса, проявляющегося увеличением продуктов ПОЛ в печени и сыворотке крови, а также изменением активности антиоксидантных ферментов. В совокупности с высокоэнергетической диетой эти проявления становятся более выраженными.

**Ключевые слова:** пестициды, крысы, липопероксидация, сыворотка крови, сердце, печень.

Одним из важных механизмов нормального развития организма является поддержание баланса процессов свободнорадикального и перекисного окисления различных субстратов и состояния антиоксидантной защиты (АОЗ) [10, с.1875].

Среди химических загрязнителей окружающей среды имеются вещества, обладающие способностью активировать процессы свободно-радикального окисления (СРО). К таким веществам относятся и средства защиты растений – пестициды, применение которых, однако, неизбежно [1], [7, с. 75]. К наиболее эффективным и широко применяемым гербицидам в России относятся хлорфеноксигербициды, среди которых ведущее место занимают производные 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) [3, с. 18], [8, с. 24].

Почвенный гербицид 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты диметиламмониевая соль (2,4-ДА), трансформирующийся до токсичных метаболитов, способен активировать перекисное окисление липидов (ПОЛ), что сопровождается нарушением транспортных и рецепторных белков клеточных мембран, снижением активности антиоксидантных систем [9, с. 3298], [15, с. 11]. Контроль за содержанием этих пол-

лютантов в окружающей среде, основанный на применении предельно-допустимых концентраций, как правило, исключает попадание гербицидов в организм человека и животного в токсических дозах, но не исключает их присутствия в концентрациях, которые находятся ниже ПДК. В свою очередь отсутствие токсических эффектов при поступлении гербицидов в организм в малых дозах не дает оснований считать, что эти вещества не будут оказывать влияния на метаболические и физиологические процессы. Учитывая вероятность поступления в организм человека гербицида 2,4-ДА, закономерно возникает вопрос об его влиянии на СРО. Цель исследования – в изучении возможности потенцирования этим гербицидом развития окислительного стресса при диете с повышенной калорийностью в эксперименте у крыс.

Материалы и методы. Работа выполнена на 32 крысах-самцах линии Вистар с начальной массой тела 130–140 граммов, полученных из питомника «Столбовая» ГУ НЦБМТ РАМН. Животных содержали в отдельных клетках в условиях контроля температуры (21–23°C) и освещенности (12 ч освещения, 12 ч темноты) при свободном доступе к воде и стандартному корму для крыс. После акклиматизации в

течение 1 недели животные были разделены случайным образом на 4 равные по численности и идентичные по массе группы. Животные 1-й группы служили контролем ( $n = 8$ ). Крысы этой группы содержались на стандартном полусинтетическом пищевом рационе и потребляли чистую бутилированную воду «Аква-Вита» из местных артезианских источников. У крыс 2-й группы ( $n = 8$ ) потребляемая вода содержала 2,4-ДА в концентрации 0,015 мг/л, что составляет 0,5 ПДК (1 ПДК равна 0,03 мг/л согласно СанПиН 2.1.4.1074-01 Питьевая вода). Животным 3-й группы ( $n = 8$ ), употреблявшим чистую бутилированную воду, к рациону добавляли маргарин «Россиянка» (производитель МЖК, Россия) в количестве 1 г ежедневно, что повышало энергетическую ценность диеты примерно на 10% по сравнению с контролем. «Россиянка» содержит 75% триацилглицеринов (в виде саломаса и пальмового масла) и относится к группе среднекалорийных маргаринов. И, наконец, крысы 4-й группы ( $n = 8$ ) потребляли воду с содержанием 2,4-ДА в концентрации, соответствующей 0,5 ПДК, и содержались на диете с повышенной калорийностью. Все животные содержались в соответствии с «Правилами проведения работ и использования экспериментальных животных» и в условиях 12-часовой длительности светового дня (режим искусственного освещения) при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . Животные имели неограниченный доступ к пище и питьевой воде с целью моделирования условий, приближенных к естественным. По окончании эксперимента через 45 суток животных под легким эфирным наркозом декапитировали и осуществляли сбор крови. Для стандартизации эксперимента забой животных производился в одно и то же время суток. Исследования проводились согласно общепринятым нормам биоэтики в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ Минздрава РФ от 19.06.03 № 267). Одну порцию собранной крови использовали для приготовления гемолизатов, другую центрифугировали 15 мин при 1500 об/мин, далее отбрасывали сыворотку, замораживали и хранили при температуре  $-20^\circ\text{C}$ . В гемолизатах эритроцитов

определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) по скорости аутоокисления адреналина в адренохром и активность каталазы кинетическим методом прямой регистрации разложения пероксида водорода на спектрофотометре Genesys 5 (США) [6, с.57]. В сыворотке крови определяли интенсивность процессов липопероксидации по уровню малонового диальдегида (H. Ohkawa e.a., 1979) [13, с.351]. Для биохимических исследований ткани сердца и печени гомогенизировали с помощью микроизмельчителя (Silent Crusher M Heidolph, Германия), гомогенат центрифугировали при 2600 об/мин для осаждения нарушенных фракций тканей и клеток. В супернатанте определяли МДА по методу, указанному выше, содержание МДА рассчитывали с учетом коэффициента молярной экстинкции на грамм белка по методу Лоури с реактивом Фолина (Panreac, Испания). Цифровой материал обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета программ «Microsoft Excel». Для оценки статистической значимости различий при сравнении двух, не связанных между собой групп, применялся t-критерий Стьюдента. Различия оценивались как достоверные при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Результаты и их обсуждение. Состояние процессов ПОЛ в тканях экспериментальных животных представлены в таблице 1.

Как видно из представленных в таблице данных, уровень МДА возрастал на 26% и 45% во 2 и 4-й группах соответственно, по сравнению с контрольной группой. В тканях сердца содержание МДА незначительно снизилось в группе животных, употреблявших 2,4-ДА, относительно интактной группы. Отмечено повышение концентрации МДА в гомогенатах печени на 14% в 2-й группе и на 37% в группе с совместным употреблением 2,4-ДА и жиров относительно контрольной группы. В опытных группах отмечено снижение СОД в сыворотке крови примерно на 40%, каталазы на 15–45% относительно контрольной группы, при этом более выраженная депрессия каталазы наблюдалась у животных 3-й группы (2,4-ДА). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное поступление в организм малых доз 2,4-ДА сопровождается развитием окислительного стресса, проявляющегося

Таблица. Состояние перекисного окисления липидов в сыворотке крови и гомогенатах сердца и печени крыс при поступлении 2,4-ДА в условиях стандартной диеты и диеты с повышенной калорийностью, (M±m)

Показатель	1 группа – контроль (n=8)	2 группа – 2,4-ДА (n=8)	3 группа – ДПК (n=8)	4 группа – 2,4-ДА + ДПК (n=8)	Достоверность различий
Сыворотка крови					
МДА, мкмоль/л	181,54± 35,73	228,86± 45,39	182,50± 48,99	263,13± 48,00	P1-2,1-3, 1-4 >0,05
СОД, у.е./гНв	257,0± 26,19	159,04± 8,03	274,43± 18,64	163,71± 10,84	P1-2, 1-3, 1-4 < 0,01
Каталаза, у.е./гНв	200,77± 28,48	109,04± 6,90	203,67± 14,26	119,08± 8,10	P1-2<0,05; P 1-3 < 0,01; P1-4 >0,05
Сердце					
МДА, мкМ/л.г белка	0,42± 0,03	0,40± 0,05	0,47± 0,05	0,47± 0,05	P1-2,1-3, 1-4 >0,05
Печень					
МДА, мкМ/л.г белка	0,36± 0,06	0,40± 0,05	0,32± 0,08	0,49± 0,05	P1-2,1-3, 1-4 >0,05

увеличением продуктов ПОЛ в печени и сыворотке крови, а также изменением активности антиоксидантных ферментов. В совокупности с высокоэнергетической диетой эти проявления становятся более выраженными.

Рядом авторов показано, что механизм прямого действия хлорфеноксигербицидов сопровождается активацией системы цитохром Р-450– зависимых оксигеназ, что ведет к ускорению метаболизма соединений с образованием высокореактивных алкилирующих продуктов [2,с.78], [14,с.615]. Активация микросомального окисления под влиянием 2,4-ДА сопровождается образованием АФК, что ведет к развитию оксидативного стресса, при этом нарушаются функции транспортных и рецепторных белков клеточных мембран, возможна частичная или

полная деструкция мембран, что ведет в последующем к инактивации цитохрома Р-450 и усугублению токсикоза [5,с.30], [12,с.85]. С другой стороны, повышенное образование АФК является причиной окислительного повреждения нуклеиновых кислот, белков, липидов, нарушения клеточного метаболизма и гибели гепатоцитов [4,с.20],[10, с.1874], [11,с.2316]. Таким образом, результаты данной работы подтверждают способность пестицидов вызывать окислительный стресс, который сегодня рассматривается как один из центральных механизмов, лежащих в основе многих токсикологических эффектов. Эти последствия будут усугубляться диетой с повышенной калорийностью, что является в настоящее время достаточно распространенным явлением.

10.08.2015

**Список литературы:**

1. Гербициды как потенциально опасные генотоксические соединения / Н.А. Ибрагимова, Р.А. Исламов, С.Ж. Кадыралиева, К. Черикбаева // Биологические науки / 10. Генетика и цитология. – 2011. – URL: [http://www.rusnauka.com/18\\_DNI\\_2011/Biologia/10\\_90102.doc.htm](http://www.rusnauka.com/18_DNI_2011/Biologia/10_90102.doc.htm)
2. Камиллов Ф.Х. Патохимия токсического действия хлорорганических и ароматических соединений / Ф.Х. Камиллов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2007. – Т. 2, № 6. – С. 76-80.
3. Крятов И.А. Эколого-гигиеническая проблема загрязнения почв / И.А. Крятов, Н.В. Русаков, Н.И. Тонкопий // Вестник РАМН. – 2006. – № 5. – С. 18-20.
4. Муфазалова Н.А. Фармакологическая коррекция иммуно– и гепатотоксических эффектов ксенобиотиков / Н.А. Муфазалова. – Уфа: РИО ГУП «Иммунопрепарат», 2002. – 136с.
5. Сибиряк С.В. Цитокиновая регуляция биотрансформации ксенобиотиков и эндогенных липофильных соединений / С.В. Сибиряк, В.А. Черешнев, А.С. Симбирцев, Д.С. Сибиряк, Т.В. Гаврилова. – Екатеринбург: УрО РАН, 2006. – 148 с.
6. Сирота, Т. В. Новый подход к исследованию аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т. В. Сирота // Вопросы медицинской химии. – 1999.– № 3. – С. 56–58.

7. Спиридонова Ю.Я. Современные проблемы изучения гербицидов (2006-2008 гг.) / Ю.Я. Спиридонова, С.Г. Жемчужин // *Агрохимия*. – 2010. – №7. – С.73-91.
8. Cause-specific mortality of Dutch chlorophenoxy herbicide manufacturing workers / D. Boers, L. Portengen, H.B. Bueno-de-Mesquita [et al.] // *Occup. Environ. Med.* – 2010. – Vol. 67, № 1. – P. 24-31.
9. Ddidigwu, Nwani C. Toxicity of the Herbicide Atrazine: Effects on Lipid Peroxidation and Activities of Antioxidant Enzymes in the Freshwater Fish *Channa Punctatus* (Bloch) / C. Ddidigwu Nwani, W. Singh Lakra, N. Sahebrao Nagpure [et al.] // *J. Environ. Res. Public Health*. – 2010. – № 8. – P. 3298–3312.
10. Differential response of young and adult leaves to herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in pea plants: role of reactive oxygen species / D.M. Pazmino, M. Rodriguez-Serrano, M.C. Romero-Puertas [et al.] // *Plant Cell Environm.* – 2011. – Vol. 34, № 11. – P. 1874-89.
11. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid effects on nephrotoxicity in rats during late pregnancy and early postnatal periods / A. Troudi, N. Soudani, A. Mahjoubi Samet [et al.] // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2011. – Vol. 74, № 8. – P. 2316-23.
12. Hypolipidemic and antioxidant activities of virgin olive oil and its fractions in 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-treated rats / A. Nakbi, W. Tayeb, S. Dabbou [et al.] // *Nutrition*. – 2012. – Vol. 28, № 1. – P. 81-91.
13. Ohkawa, H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Vagi // *Analyt. Biochem.* – 1979. – V. 95. – P. 351–358.
14. Quattrochi L. Cyp3A regulation: from pharmacology to nuclear receptors / L.C. Quattrochi, P.S. Guzelian // *Drug Metab. Dispos.* – 2001. – Vol. 29, № 5. – P. 615-22.
15. Schreinemachers, D.M. Perturbation of lipids and glucose metabolism associated with previous 2,4-D exposure: a cross-sectional study of NHANES III data, 1988-1994 / D.M. Schreinemachers // *Environm. Health*. – 2010. – № 9. – P. 11.
16. Welshons WV, Thayer KA, Judy BM, Taylor JA, Curran EM, vom Saal FS. 2003. Large effects from small exposures. I. Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity. *Environ Health Perspect* 111:994-100.

Сведения об авторе:

**Карманова Дарья Сергеевна**, старший преподаватель кафедры химии и фармацевтической химии  
Оренбургского государственного медицинского университета  
460000, г. Оренбург, пр-т Парковый, 7, E-mail: daryakarmanova@mail.ru