

УДК: 615.9+616.6:001.5

## ВПЛИВ МАЛИХ ДОЗ ХЛОРСУЛЬФУРОНУ НА СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ОКИСЛЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ У СУБХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

Леоненко Н.С.

Інститут медицини праці АМН України, м. Київ

При дослідженні особливостей змін перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та окислювальної модифікації білків при введенні хлорсульфурону в малих дозах протягом 30 діб виявлено дозозалежну інтенсифікацію ПОЛ у печінці, еритроцитах та плазмі крові, а також окислювальної модифікації білків у плазмі крові. Найбільш виражені та найбільш зміни інтенсивності вільнорадикального ПОЛ відмічено в печінці. Відновний період протягом двох тижнів сприяє нормалізації досліджуваних показників.

**Ключові слова:** гербіциди, похідні сульфонілсечовини, хлорсульфурон, окислювальна модифікація білків, перекисне окислення ліпідів

### Вступ

Сучасні засоби хімічного захисту рослин характеризуються високою вибірковою дією, низькими нормами витрат та малою токсичністю для теплокровних. Таким характеристикам відповідає хлорсульфурон, що належить до похідних сульфонілсечовин – препаратів з широким спектром гербіцидної дії та високою біологічною активністю [6]. Згідно з «Переліком пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні» норми витрат цієї групи препаратів становлять 1,8–850 г/га [10].

Похідні сульфонілсечовини у високих дозах – помірно та малотоксичні сполуки для теплокровних (3–4 клас небезпеки), не мають резорбтивного та місцевого подразнюючого впливу при нанесенні на шкіру. Видова та статева чутливість до них не виражена. Для цих препаратів характерна місцево-подразнююча дія на слизові оболонки очей, і лише в деяких з них проявляються слабкі сенсibiliзуючі ефекти. Похідні сульфонілсечовини – малокумулятивні препарати за критерієм загибелі тварин (коефіцієнт кумуляції більше 5).

Разом з тим, у літературі відмічається можливість розвитку хронічних уражень низькими рівнями похідних сульфонілсечовини [6], що проявляється високими величинами зон хронічної (від 11,7 до 1000) і біологічної (від 250 до 5000) дії. За цими ознаками похідні сульфонілсечовини (хлорсульфурон, метсульфурон-метил, тріасульфурон, нікосульфурон та ін., до 20 найменувань) віднесено до I класу небезпеки у відповідності до ГОСТ 12.1.007.

Підставою для вищенаведеного були зміни показників функціонального стану печінки, морфологічного складу периферичної крові, вуглеводного обміну, гормонального статусу організму теплокровних та зниження маси тіла тварин, виявлені при тривалому введенні препаратів цієї групи в малих дозах [6, 7].

У сучасних наукових дослідженнях значна увага приділяється процесам вільнорадикального окислення, інтенсифікація яких визнана загальним механізмом ушкодження клітин і є результатом впливу активних форм кисню на всі біологічні структури. За нормального функціонування організмів підтримується динамічна рівновага між антиоксидантною і прооксидантною системами [2, 8]. Виражене порушення цієї рівноваги з розвитком окислювального стресу призводить до посилення процесів окислювальної деструкції ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів. При вільнорадикальній патології перш за все відбувається окислення ліпідів, інтенсивність якого значною мірою залежить від стану антиоксидантного захисту. Білки окислюються на другому етапі, і до цього процесу включаються не тільки активні форми кисню, а й інші продукти, в тому числі перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [2, 3]. Окислювальна модифікація білків (ОМБ) вважається навіть більш інформативною у виявленні ушкодження тканин, ніж ПОЛ, оскільки продукти ОМБ більш стабільні, порівняно з ПОЛ [3]. Процеси ПОЛ та ОМБ при дії похідних сульфонілсечовини та їх гігієнічному нормуванні не досліджувались.

Мета роботи полягала в експериментальному дослідженні особливостей впливу гербіциду на основі хлорсульфурону на рівні малих доз в субхронічному експерименті на стан процесів ПОЛ та окислювальної модифікації білків організму щурів.

### Матеріали та методи

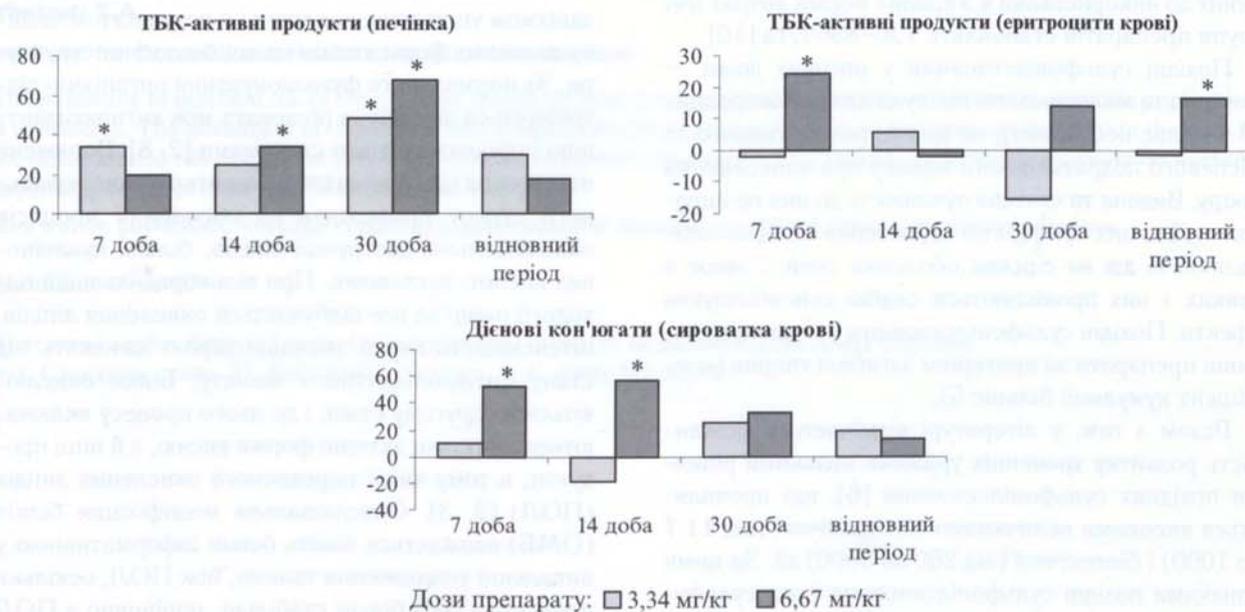
Дослідження проведено на статевозрілих щурах у динаміці при пероральному введенні протягом 30 діб гербіциду на основі хлорсульфурону, що вміщує 75% діючої речовини. Терміни дослідження – 7, 14, 30 доба та відновний період протягом 2 тижнів. Препарат вводили лабораторним тваринам у вигляді водного розчину щоденно, натще в дозах 3,34 мг/кг та 6,67 мг/кг з розрахунку на діючу речовину. Вибір доз був обумовлений необхідністю оцінки ушкоджувального впливу хлорсульфурону на рівні малих доз при короткочасному повторному введенні препарату. Величини недіючих та порогових рівнів хлорсульфурону в субхронічному і хронічному експериментах, встановлено за біохімічними, гематологічними та іншими показниками, – 5 мг/кг маси тіла лабораторних тварин.

Стан ПОЛ оцінювали за інтенсивністю спонтанного накопичення ТБК-активних продуктів у печінці [1], вмістом ТБК-активних продуктів в еритроцитах [5] та дієнових кон'югатів (ДК) у плазмі крові [5].

Стан антиоксидантної системи оцінювали за вмістом SH-груп [12] та церулоплазміну (ЦП) у плазмі крові [5]. Окислювальну модифікацію білків плазми крові щурів визначали за методом О.Ю.Дубиніної в модифікації І.Ф.Мещишена [8]. Про ступінь окислення робили висновки за утворенням альдегідних і кетонних груп у радикалах залишків аліфатичних амінокислот білків плазми крові. Альдегідо- і кетонпохідні нейтрального характеру (ОМБ<sub>370</sub>) реєстрували за оптичною густиною при 370 нм, основного (ОМБ<sub>430</sub>) – при 430 нм. Білок визначали за біуретовим методом. Результати проведених досліджень оброблено статистично з використанням критерію t-Стюдента.

### Результати та обговорення

В результаті проведених досліджень при введенні щурам гербіциду на основі хлорсульфурону в дозі 3,34 мг/кг виявлено вірогідне збільшення інтенсивності накопичення ТБК-активних продуктів у печінці на 7 та 30 добу експерименту – відповідно на 34% та 48% щодо контролю. При введенні препарату в дозі 6,67 мг/кг також відмічалася інтенсифікація ПОЛ у печінці на 14 та 30 добу експерименту – на 34% та 67% до контролю відповідно. В той самий час статистично значуще підвищення кількості ТБК-активних продуктів в еритроцитах крові (на 24% та 16%) відмічалось тільки за дії більшої дози на 7 добу експерименту та у відновний період (рис. 1). У віднов-



**Рис. 1.** Стан перекисного окислення ліпідів у печінці, еритроцитах та плазмі крові щурів при введенні гербіциду на основі хлорсульфурону (тут і далі результати представлено в % щодо контролю, знаком \* відмічено вірогідні зміни порівняно з контролем,  $p < 0,05$ ).

ний період інтенсивність накопичення ТБК-активних продуктів у печінці мала тенденцію до нормалізації при дії обох доз.

За дії хлорсульфурону в дозі 6,67 мг/кг кількість ДК (рис. 1) у плазмі крові щурів суттєво (на 53% та 58%) збільшувалася на 7 та 14 добу експерименту.

В подальшому, на 30 добу експерименту за дії цієї дози зміни в кількості ДК у плазмі крові мали тенденцію до збільшення (33% щодо контролю), а у відновний період спостерігалася нормалізація цього показника. За дії досліджуваного гербіциду в дозі 3,34 мг/кг статистично значущих змін у кількості дієвих кон'югатів у плазмі крові не відмічено. Таким чином, зміни інтенсивності ПОЛ у печінці піддослідних щурів мали більш виражений та односпрямований характер протягом усього терміну експерименту за дії обох доз порівняно зі змінами в еритроцитах та плазмі крові. Водночас, хоча зміни ПОЛ в еритроцитах крові були менш вираженими, але, разом з тим, у цьому біосубстраті не відмічалася їх нормалізації у відновному періоді.

Повторне введення хлорсульфурону призводило до змін показників антиоксидантної системи. Так, вміст ЦП у плазмі крові вірогідно збільшувався на 14 добу експерименту за дії обох доз хлорсульфу-

рону (на 39% – 3,34 мг/кг, 21% – 6,67 мг/кг). За дії більшої дози така спрямованість змін зберігалася і на 30 добу експерименту – на 53% щодо контролю.

Через два тижні відновного періоду спостерігалася нормалізація цього показника. Кількість SH-груп у плазмі крові піддослідних тварин вірогідно не відрізнялася від контролю, але за дії більшої дози спостерігалася тенденція до їх збільшення (рис. 2).

При дослідженні показників окислювальної модифікації білків при повторній дії малих доз хлорсульфурону за альдегідо- та кетонпохідних нейтрального характеру (ОМБ<sub>370</sub>) статистично значущі зміни ( $p < 0,05$ ) виявлено тільки за дії більшої дози (6,67 мг/кг) у перші терміни дослідження – на 73% (рис. 3). У подальшому, на 14 добу дослідження ОМБ<sub>370</sub> мала лише тенденцію до збільшення за дії обох досліджуваних доз препарату. При введенні хлорсульфурону протягом 30 діб, як і у відновний період, відмічалася нормалізація ОМБ за альдегідо- та кетонпохідними нейтрального характеру.

Зміни окислювальної модифікації білків альдегідо- та кетонпохідних основного характеру (ОМБ<sub>430</sub>) в цьому експерименті мали аналогічну спрямованість зі змінами ОМБ<sub>370</sub>, але були більш вираженими.

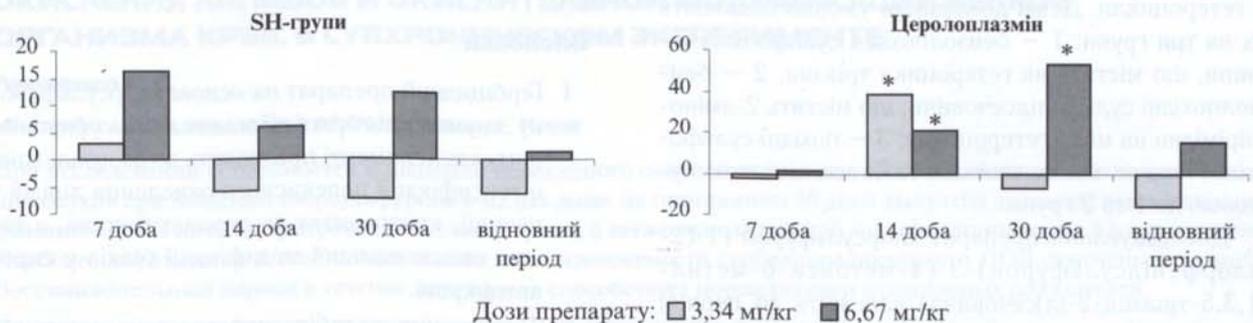


Рис. 2. Вміст сульфгидрильних груп та церулоплазміну в сироватці крові щурів при введенні гербіциду на основі хлорсульфурону.

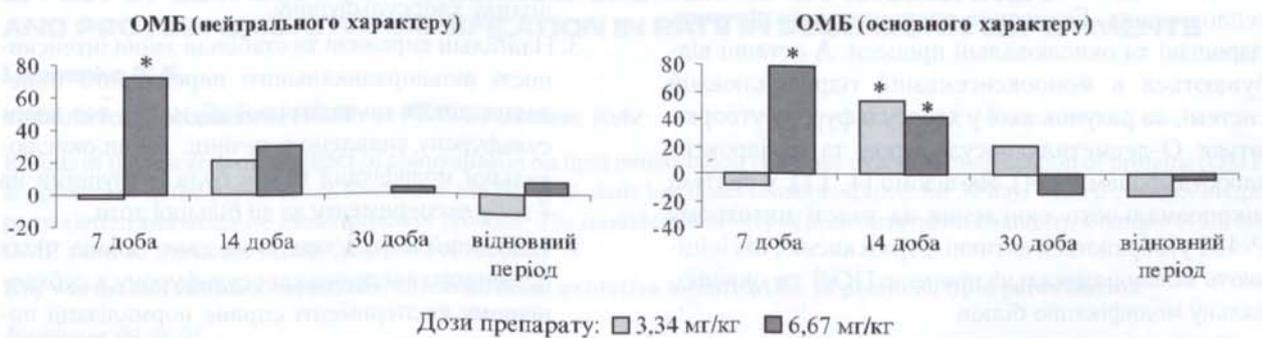


Рис. 3. Окислювальна модифікація білків у сироватці крові щурів при введенні гербіциду на основі хлорсульфурону.

Підтвердженням цього була статистично значуща активація ОМБ за альдегідо- та кетонпохідними основного характеру не тільки на 7 добу (на 79%) за дії більшої дози, а й на 14 добу експерименту за дії досліджуваного гербіциду на 53% та 41% відповідно дозам 3,34 мг/кг та 6,67 мг/кг. У подальшому, на 30 добу експерименту і у відновний період ОМБ<sub>430</sub>, як і ОМБ<sub>370</sub>, також статистично значущо не відрізнялася від контролю.

Таким чином, зміни ПОЛ за дії хлорсульфурону в малих дозах при щоденному повторному пероральному введенні протягом 30 діб були дозозалежними. Найбільшу вираженість та стабільність інтенсифікації ПОЛ відмічено в печінці. В еритроцитах та плазмі крові статистично значуще збільшення ПОЛ було тільки за дії більшої дози (6,67 мг/кг). Антиоксидантний захист був достатнім для запобігання розвитку порушень окисної модифікації білків, але не запобігав нормалізації ПОЛ при дії препарату у період введення. Відновний період забезпечував нормалізацію процесів ПОЛ та ОМБ у досліджуваних біологічних субстратах за винятком вмісту ТБК-активних продуктів в еритроцитах крові за дії більшої дози.

Сульфонілсечовини в основі своєї структури мають сульфонілсечовинний місток, що об'єднує арил і гетероцикли. Деякі дослідники умовно поділяють їх на три групи: 1 – бензолпохідні сульфонілсечовини, що містять як гетероцикл триазин; 2 – бензолпохідні сульфонілсечовини, що містять 2-амінопіримідин на місці гетероциклу; 3 – похідні сульфонілсечовини, що не ввійшли за своєю хімічною будовою до 1 та 2 групи.

Досліджуваний препарат хлорсульфурон (1-(2-хлорфенілсульфурон)-3-(4-метокси-6-метил-1,3,5-тріазин-2-іл)сечовина) належить до першої групи, якій притаманно найбільшу гербіцидну активність. Згідно з даними літератури, препарат швидко метаболізується і виводиться з організму теплокровних. Екскрецію препарату забезпечують гідролізи та окислювальні процеси. А останні відбуваються в монооксигеназній гідроксилуючій системі, за рахунок якої у хлорсульфурону утворюються О-десметилхлорсульфурон та 5-гідроксихлорсульфонамід [14]. Як відомо [4, 11], у системі мікросомального окислення за участі цитохрому Р-450 утворюються активні форми кисню, які ініціюють вільнорадикальні процеси ПОЛ та окислювальну модифікацію білків.

Отже, можна припустити, що активація процесів ПОЛ та окислювальної модифікації білків

пов'язана з процесами метаболізму похідних сульфонілсечовини в організмі тварин, що відбуваються в монооксигеназній гідроксилуючій системі [11]. Інтенсифікація ПОЛ за дії хлорсульфурону була більш виражена та тривала, особливо в печінці, порівняно з окислювальною модифікацією білків. Причому антиоксидантний захист не повністю нейтралізував порушення ПОЛ. Водночас ініціація ОМБ проявлялася переважно в перші терміни дослідження. Оскільки окисленим білкам притаманна підвищена чутливість до протеолізу, імовірно, протеази забезпечували гідроліз білків після їх окислювальної модифікації [3, 4, 9].

Дозозалежні зміни досліджених показників вільнорадикальних процесів та досить високий рівень їх за дії більшої дози хлорсульфурону (6,67 мг/кг) дозволяють трактувати останню згідно з міжнародною класифікацією [13] як LOAEL – мінімальний рівень виявлених шкідливих ефектів, що можуть передувати розвитку патології чи створювати передумови для її існування і повинні враховуватися при встановленні гігієнічних нормативів та прогнозуванні ризику шкідливого впливу препарату на людей, що мають контакт з хлорсульфуроном. А меншу дозу хлорсульфурону (3,34 мг/кг) можна розглядати як NOAEL (невиявлені шкідливі ефекти).

## Висновки

1. Гербіцидний препарат на основі хлорсульфурону за умов повторної дії малих доз у субхронічному експерименті призводить до дозозалежної інтенсифікації перекисного окислення ліпідів у печінці, еритроцитах та сироватці крові, а також окислювальної модифікації білків у сироватці крові.
2. Визначення перебігу перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків є інформативним при оцінці ушкоджувального впливу хлорсульфурону.
3. Найбільш виражені та стабільні зміни інтенсивності вільнорадикального перекисного окислення ліпідів за повторної дії малих доз хлорсульфурону виявлено в печінці. Зміни окислювальної модифікації білків були значущими на 7 добу експерименту за дії більшої дози.
4. Відновний період протягом двох тижнів після щоденного введення хлорсульфурону в субхронічному експерименті сприяє нормалізації показників перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків.

## Література

1. Гацко Г.Г., Мажуль Л.М., Позднякова Е.А. Перекисное окисление липидов в тканях крыс разного возраста в норме и при голодании//Бюлл. эксперим. биол. и медицины.– 1982.– №4.– С. 30–32.
2. Григор'єва Н.П., Яремій І.М., Мещишен І.Ф. Окиснювальна модифікація білків та активність деяких антиоксидантних ферментів крові щурів за умов опромінення та дії настоянки арніки гірської//Мед. хім.– 2000.– Т.2, №1.– С. 70–73.
3. Дубініна О.Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків//Там же.– 2001.– Т.3, №2.– С. 5–12.
4. Журавлева Т.Д., Суплотов С.Н., Киянюк Н.С. и др. Возрастные особенности свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в эритроцитах здоровых людей//Клин. лаб. диагностика.– 2003.– №8.– С. 17–18.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. Т.2.– Минск: Беларусь, 2000.– 495 с.
6. Любинская Л.А., Пovyакель Л.И. Токсикологическая характеристика производных сульфонилмочевины. [http://www.medved.kiev.ua/archiv\\_mg/2\\_2000.htm](http://www.medved.kiev.ua/archiv_mg/2_2000.htm).

7. Любинская Л.А., Пovyакель Л.И., Бардик Ю.В. Влияние производных сульфонилмочевин на гормональный статус организма теплокровных животных//Наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми токсикології, гігієни та аналітичної хімії пестицидів та агрохімікатів»: Тези допов.– <http://www.medved.kiev.ua>
8. Мещишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові//Буковинський мед. вісн.– 1998.– Т.2, №1.– С. 156–158.
9. Мещишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окислювальної модифікації білків//Там же.– 1999.– Т.3, №1.– С. 196–205.
10. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні.– К.: Юнівест Маркетинг, 2003.– 157 с.
11. Тимочко М.Ф., Кобилінська Л.І. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль//Мед. хім.– 1999.– Т.1, №1.– С. 19–25.
12. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups//Arch. Biochem. Biophys.– 1959.– V.82.– P. 70–76.
13. IPCS Environmental Health Criteria 170. Assessing human health risk of chemicals: derivation of guidance value for health-based exposure limits.– Geneva: WHO, 1994.– 73 p.
14. The Pesticide Manual/9th ed./British Crop Protection Council. 1991

## ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ ХЛОРСУЛЬFUРОНА НА СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ ОРГАНИЗМА КРЫС В СУБХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Леоненко Н.С.

Институт медицины труда АМН Украины, г. Киев

При исследовании особенностей изменений перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белков при введении хлорсульфурана в малых дозах на протяжении 30 дней выявлена дозозависимая интенсификация ПОЛ в печени, эритроцитах и плазме крови, а также окислительной модификации белков в плазме крови. Наиболее выраженные и стабильные изменения интенсивности свободнорадикального ПОЛ отмечены в печени. Восстановительный период в течение двух недель способствует нормализации исследуемых показателей.

Ключевые слова: гербициды, производные сульфонилмочевины, хлорсульфуран, окислительная модификация белков, перекисное окисление липидов

## EFFECT OF LOW DOSES OF CHLORSULFUROXON ON LIPID PEROXIDATION AND PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION IN RATS IN SUBCHRONIC EXPERIMENTS

Leonenko N.S.

Institute for Occupational Health of AMS of Ukraine, Kyiv

Results of the research of the effect of chlorsulfuron on lipid peroxidation (LP) and oxidative modification of proteins (OMP) are presented in the paper. It was found that the effect of daily low doses of chlorsulfuron for 30 days caused changes in lipid peroxidation and oxidative modification of proteins. The modifications were of dose-dependent character. Changes of LP and OMP came to the norm within the period of recovery.

Key words: sulfonilurea herbicides, chlorsulfuron, oxidative modification of proteins, lipid peroxidation

Надійшла 09.06.05

Контактна особа: Леоненко Н.С., Інститут медицини праці АМН України, вул. Саксаганського, 75, Київ 01033, Україна, тел.: (044) 289-42-74