

## ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДНОЙ ФАЗЫ И АКТИВНОСТИ Na,K-АТФАЗЫ В БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ДИХЛОРЕТАНОМ

Срубиллин Д.В.<sup>1</sup>, Еникеев Д.А.<sup>1</sup>, Мышкин В.А.<sup>2</sup>, Хусайнова К.Р.<sup>1</sup>, Сазонова М.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России» (450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3) rectorat@bashgmu.ru;

<sup>2</sup>Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека Роспотребнадзора России (450006, г. Уфа, ул. С. Кувыкина, 94) bakirov@anrb.ru

Воздействие хронической интоксикации дихлорэтана (ДХЭ) на нервную систему изучено недостаточно. Нервная ткань характеризуется высоким содержанием и разнообразием липидных соединений. Важную роль в обеспечении нормального функционирования нервных клеток играет мембранно-связанный фермент – Na,K-АТФаза, поэтому цель работы состояла в выяснении некоторых патогенетических механизмов нарушения состояния клеточных мембран головного мозга крыс при хронической интоксикации ДХЭ путем исследования изменения фосфолипид-фосфолипидных соотношений и активности интегрального ионтранспортного белка — Na,K-АТФазы. Эксперименты проведены на крысах-самцах, у которых моделировали хроническую интоксикацию путем внутрижелудочного введения ДХЭ в дозе 0,01 LD<sub>50</sub> в течение 60 суток. При многократном введении ДХЭ наблюдались изменения в распределении фракций фосфолипидов, что обуславливало повышение насыщенности липидного бислоя и увеличение микровязкости мембран. В результате структурной модификации липидного слоя мембран уменьшается активность Na,K-АТФазы головного мозга. Проведенный корреляционный анализ выявил корреляционную связь между активностью Na,K-АТФазы и содержанием лизофосфатидилхолина ( $r = -0,89$ ,  $P = 0,003$ ) на 60-е сутки хронической интоксикации ДХЭ. Изменения свойств мембран нервных клеток приводят к неврологическим отклонениям и ухудшают ориентировочно-исследовательскую деятельность крыс. Выявленные нарушения клеточных мембран являются важным звеном в патогенезе нейротоксического действия ДХЭ при хронической интоксикации.

Ключевые слова: дихлорэтан, мембрана, фосфолипиды, Na,K-АТФаза, крысы, корреляция

## CHANGES IN THE LIPID PHASE AND Na,K-ATPHASE ACTIVITY IN THE CEREBRAL HEMISPHERES OF THE RAT BRAIN CHRONICALLY INTOXICATED WITH DICHLOROETHANE

Srubilin D.V.<sup>1</sup>, Enikeyev D.A.<sup>1</sup>, Myshkin V.A.<sup>2</sup>, Khusainova K.R.<sup>1</sup>, Sazonova M.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bashkirian State Medical University (3, Ul. Lenina, 450000, Ufa), rectorat@bashgmu.ru;

<sup>2</sup>Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia bakirov@anrb.ru

The effects of chronic dichloroethane (DCE) intoxication on the nervous system are not completely elucidated. Nervous tissue is known to have a high concentration and diversity of lipid compounds. Na,K-ATPhase – the membrane-related enzyme plays a key role in normalizing functions of nervous cells. So, the purpose of the work was to elucidate certain pathogenic mechanisms damaging cellular membranes of the rat brain chronically intoxicated with DCE by studying changes in phospholipid-phospholipid interactions and activity of the integral iontransport protein - Na,K-ATPhase. The experiments were conducted on male rats with modulated chronic intoxication induced by DCE intra-gastric administration at a dose of 0,01 LD<sub>50</sub> for 60 days. With multiple DCE administrations, there was evidence of changes in phospholipid fractions distribution resulting in lipid bilayer saturation and an increase in the microviscosity of membranes. Due to a structural modification of the membrane lipid layer there was a decrease in the brain Na,K-ATPhase activity. Correlation analysis carried out has detected a correlation relationship between Na,K-ATPhase activity and lysophosphatidylcholine concentration ( $r = -0,89$ ,  $P = 0,003$ ) by day 60 of chronic DCE intoxication. Changes in membrane properties of nervous cells cause neurologic deviations and aggravates the indicative-cognitive activity of rats. The cellular membrane damages revealed are an important link in the pathogenesis of DCE neurotoxic effects in chronic intoxication.

Keywords: dichloroethane, membrane, phospholipids, Na,K-ATPhase, rats, correlation

Хлорированные углеводороды, в частности дихлорэтан (ДХЭ), являются одними из наиболее токсичных веществ, широко используемыми в быту и промышленности. Обмен

ДХЭ происходит по схеме летального синтеза. Основными метаболитами являются: 2-хлорэтанол, хлоруксусный альдегид, монохлоруксусная кислота, которые значительно токсичнее ДХЭ. Попадая внутрь организма, ДХЭ как гидрофобное вещество быстро исчезает из крови, накапливаясь в тканях, богатых липидами: нервной системе, печени, сальнике, надпочечниках, откуда выводится в течение нескольких дней. При сохраняющейся высокой летальности от острых интоксикаций ДХЭ наиболее часто встречаются состояния, связанные с длительным поступлением токсиканта в организм. При этом способ введения ДХЭ, как показали многочисленные наблюдения, не оказывает существенного влияния на распределение его метаболитов [3, 9, 10, 22].

Считается, что основным патогенетическим звеном токсического действия ДХЭ на организм является поражение печени, поскольку именно этот орган играет ведущую роль в процессе его превращения. Воздействие хронической интоксикации ДХЭ на нервную систему изучено недостаточно. Нервная ткань характеризуется высоким содержанием и разнообразием липидных соединений, которые определяют ее морфологическую гетерогенность, метаболизм и функциональную активность. Фосфолипиды являются главными липидными компонентами клеточных мембран, они создают достаточно стойкие двухслойные мембранные структуры, обладающие в то же время необходимой текучестью и обеспечивающие нормальную работу белковых мембранных структур, регулирующих проницаемость ионов и веществ. Фосфолипиды являются предшественниками вторичных мессенджеров и биологически активных соединений, участвующих в механизмах синаптической трансмиссии, процессах адаптации и патогенезе различных заболеваний центральной нервной системы [15, 23]. Важную роль в обеспечении нормального функционирования нервных клеток играет мембранно-связанный фермент – Na,K-АТФаза, участвующий в регуляции распределения катионов натрия и калия между клеткой и межклеточным пространством и определяющий биоэлектрические свойства мембран нервных клеток. Вместе с тем комплексная оценка повреждений клеточных мембран головного мозга с учетом деятельности мембранно-зависимых ферментных систем при хронической интоксикации ДХЭ в доступной нам литературе не встречается.

**В связи с вышеизложенным целью** настоящей работы являлось выяснение некоторых патогенетических механизмов нарушения состояния клеточных мембран головного мозга крыс при хронической интоксикации ДХЭ путем исследования изменения фосфолипид-фосфолипидных соотношений и активности интегрального ионтранспортного белка - Na,K-АТФазы.

#### **Материалы и методы исследования**

Эксперименты выполнены на 48 здоровых половозрелых неинбредных белых крысах-самцах массой 180–220 г, разделенных на 3 группы: 1-я – контрольная (n=16), 2-я и 3-я – животные с моделированной интоксикацией дихлорэтаном (n=16 в каждой группе) соответственно на 30-е и 60-е сутки исследования. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 10.10.83 г., № 267 МЗ РФ от 19.06.03 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Правила по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных». Хроническая интоксикация дихлорэтаном достигалась ежедневным энтеральным введением токсиканта в растворе оливкового масла в дозе 5 мг/кг (0,01 LD<sub>50</sub>) в течение 60 суток. Контрольные животные получали внутрижелудочно равный объем оливкового масла. Животных умерщвляли методом краниоцервикальной дислокации под легким эфирным наркозом. Объектом исследования служили большие полушария головного мозга. Эксперименты выполнялись в осенне-зимний период времени. Забор биологического материала производился в утренние часы. Тестирование осуществляли на 30-е и 60-е сутки.

Экстракцию липидов из полушарий головного мозга производили по методу Folch J. Для разделения фосфолипидов на классы использовали метод восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля в системе растворителей хлороформ: метанол: 7н аммиак в объемных соотношениях 60:35:5, предложенной Скидморе и Энтенманом [26]. Хроматограммы проявляли парами йода. Идентификацию фракций фосфолипидов (ФЛ) проводили при помощи качественных (цветных) реакций, измерением величины R<sub>f</sub>. Фосфолипиды, содержащие свободные аминогруппы – фосфатидилэтаноламин (ФЭ) и фосфатидилсерин (ФС), определяли с помощью нингидрина, холинсодержащие фосфолипиды (фосфотидилхолин, лизофосфатидилхолин, сфингомиелин) определяли при помощи реактива Драгендорфа. Для определения монофосфоинозитидов использовали аммиачный раствор серебра, состоящий из равных объемов 0,1 н AgNO<sub>3</sub> и 1 н NH<sub>3</sub>, а для обнаружения фосфатидов использовали хлорид железа (FeCl<sub>3</sub>) и сульфосалициловую кислоту [6]. Минерализацию липидного фосфора проводили в среде хлорной кислоты с последующим проведением «цветной» реакции с образованием молибденовой сини [11]. Содержание фосфолипидов выражали в мкг липидного фосфора на 1 г влажной ткани с последующим определением коэффициентов их соотношений. Суммарные ФЛ вычисляли по сумме отдельных фракций.

Получение мембранных препаратов больших полушарий головного мозга крыс проводили из 10% гомогенатов на среде выделения, содержащей 0,03 М сахарозы с 0,01 М триса и 0,005 М ЭДТА (рН 7,5) методом дифференциального центрифугирования. Активность Na,K-АТФазы в мембранах оценивали, измеряя количество неорганического фосфата,

который освобождается в ходе гидролиза АТФ. Общую АТФазную активность определяли в среде следующего состава (в мМ): трис – 50, NaCl – 100, KCl – 20, MgCl<sub>2</sub> – 3, АТФ – 3 (рН 7,5) и 40–50 мкг мембранного белка в 1 мл конечного объема. Реакцию начинали внесением субстрата и инкубировали 15 мин при 37°С, останавливали реакцию добавлением холодного раствора трихлоруксусной кислоты (конечная концентрация 5%). При определении активности Mg<sup>2+</sup>-АТФазы среда инкубации содержала те же компоненты и дополнительно 1мМ убаина для ингибирования активности Na,K-АТФазы. Активность Na,K-АТФазы рассчитывали как разность между общей и Mg<sup>2+</sup>-зависимой АТФазной активностью [18]. Содержание белка определяли по Лоури. Количественное определение фосфата проводили методом Ратбуна и Бетлаха, который позволяет определять неорганический фосфат в присутствии АТФ.

Ориентировочно-исследовательские реакции оценивали по тесту «открытое поле» [5], а неврологические нарушения — по методу [2].

Обработку полученных результатов проводили с применением методов вариационной статистики. После проверки нормальности распределения изучаемых параметров в сравниваемых группах определяли средние величины (M), ошибку средних величин (m) при соответствии распределения признака закону нормального распределения с расчетом сравнения групп показателей по критерию Стьюдента (t). Минимальный уровень статистически значимых различий верифицировали при p<0,05. Взаимосвязь признаков оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену. Математическую обработку выполняли на компьютере с применением стандартных пакетов программы Statistica 6.0 и программного обеспечения Microsoft Excel.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Для нервной ткани характерно высокое содержание фосфолипидов. В мозге фосфолипиды составляют 65–70% суммарного веса всех липидов. Являясь важным структурным компонентом плазматических мембран, фосфолипиды регулируют активный и пассивный трансмембранный транспорт веществ, определяют чувствительность клеток к действию лигандов, детерминируют активность мембранно-связанных ферментных систем [4, 19]. Анализ полученных результатов, представленный в таблице 1, свидетельствует о значительных качественных и количественных изменениях в фосфолипидном составе полушарий головного мозга крыс на 30-е сутки хронической интоксикации ДХЭ на фоне незначительного уменьшения содержания суммарных фосфолипидов (СФЛ). Разделение смеси фосфолипидов полушарий головного мозга крыс экспериментальных групп показало наличие семи компонентов: фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ),

фосфатидилсерина (ФС), сфингомиелина (СМ), лизофосфатидилхолина (ЛФХ), фосфатидных кислот (ФК), монофосфоинозотида (МФИ).

Таблица 1

Содержание отдельных представителей фосфолипидов в больших полушариях головного мозга крыс при хронической интоксикации ДХЭ (M±m)

Исследуемый показатель		Группы животных		
		1-я группа, (n=16)	2-я группа, (n=16)	3-я группа, (n=16)
Суммарные фосфолипиды, мкг Р на г. влажной ткани		2167,5±26,95	2006,7±69,45*	1785,1±29,0*^
Фракции ФЛ				
ЛФХ	мкг Р на 1 г влажной ткани	54,4±4,3	63,3±4,29	70,2±4,93
	в % от липидного фосфора	2,52±0,21	3,14±0,13*	3,93±0,26*^
ФХ	мкг Р на 1 г влажной ткани	944,04±28,7	809,9±36,3	779,66±25,26
	в % от липидного фосфора	43,53±1,05	40,33±1,06	43,7±1,3
ФЭ	мкг Р на 1 г влажной ткани	622,78±14,7	484,46±19,9	452,15±16,29
	в % от липидного фосфора	28,72±0,49	24,13±0,51*	25,35±0,89*
ФС	мкг Р на 1 г влажной ткани	218,85±11,9	288,3±12,23	167,3±11,87
	в % от липидного фосфора	10,14±0,64	14,38±0,41*	9,36±0,62^
СМ	мкг Р на 1 г влажной ткани	168,03±11,17	180,13±8,47	168,38±7,4
	в % от липидного фосфора	7,74±0,49	9,0±0,37	9,44±0,41*
МФИ	мкг Р на 1 г влажной ткани	118,13±6,56	130,06±8,6	89,76±7,63
	в % от липидного фосфора	5,49±0,29	6,5±0,4	5,02±0,4^
ФК	мкг Р на 1 г влажной ткани	40,93±2,63	50,55±3,94	57,64±5,4
	в % от липидного фосфора	1,89±0,11	2,52±0,18*	3,22±0,28*
Коэффициент ЛФХ/ФХ, усл.ед.		0,059±0,0054	0,078±0,003*	0,091±0,007*
Коэффициент ФХ/СМ, усл.ед.		5,84±0,5	4,57±0,3*	4,73±0,33
Коэффициент ФЭ/ФС, усл.ед.		2,92±0,2	1,69±0,062*	2,8±0,22^
Коэффициент ФХ/ФК, усл.ед.		23,54±1,24	16,7±1,44*	14,35±1,3*
Коэффициент ФЭ+ФС/ФХ+СМ, усл. ед.		0,76±0,066	0,78±0,022	0,66±0,029*^

Примечание: \* — достоверно (p<0,05) по сравнению с первой (контрольной) группой в процентном соотношении от липидного фосфора

^ — достоверно (p<0,05) 3-я группа по сравнению со 2-й группой в процентном соотношении от липидного фосфора

При изучении фосфолипидного спектра наблюдалось перераспределение состава ФЛ в сторону накопления ЛФХ, СМ, ФС и снижения доли ФХ и ФЭ. Анализ фосфолипидного состава выявил снижение содержания легкоокисляемой фракции фосфатидилхолина (ФХ) на 7,4% ( $p > 0,05$ ) с одновременным ростом образования ЛФХ на 24,6% ( $p < 0,05$ ), который является специфическим маркером фосфолипидной активности. Увеличение коэффициента ЛФХ/ФХ на 32,2% ( $p < 0,05$ ) свидетельствует об интенсификации процессов деацилирования фосфолипидов, при котором образуются неэстерифицированные жирные кислоты, вступающие в окислительные процессы, связанные с активацией ПОЛ и образованием малонового диальдегида. Недостаток ФХ в наружном слое мембран эритроцитов компенсировался за счет повышения количества СМ. Сфингомиелин является медленно обменивающимся ФЛ головного мозга, не содержащим полиеновые кислоты. В силу высокой насыщенности сфингомиелина в кластеры, которые образует этот фосфолипид в мембране, встраивается большое количество холестерина, что влечет за собой уменьшение проницаемости клеточной мембраны, нарушение процессов активного транспорта, переноса веществ [13]. При интоксикации ДХЭ коэффициент ФХ/СМ, характеризующий уровень перераспределения фосфолипидных фракций внутри мембранного бислоя, составил 4,57 условных единиц. Снижение этого коэффициента на 21,7% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой здоровых животных свидетельствует об уменьшении жидкостных свойств и увеличении микровязкости липидной фазы мембраны.

Фосфолипидные фракции ФЭ и ФС характеризуют внутренний монослой мембраны. Количество ФЭ уменьшилось на 16,0% ( $p < 0,001$ ), а содержание ФС возросло на 41,8% ( $p < 0,001$ ). Расчет коэффициента ФЭ/ФС показал, что при интоксикации ДХЭ его величина составляет 1,69 усл.ед., что ниже показателей контрольной группы на 42,1% ( $p < 0,001$ ). Увеличение ФС на фоне снижения содержания ФХ и ФЭ является защитно-приспособительной реакцией клеток, обеспечивающей регуляцию микровязкости липидного компонента мембраны [1, 7, 20]; в какой-то мере увеличение ФС частично нивелировало потерю ФХ и ФЭ. Повышение количества ФС возможно за счет реакции обмена азотистыми основаниями между ФХ, ФЭ и ФС, осуществляемыми холин-специфической и этанол-специфической фосфатидилсеринсинтетазами [7]. В условиях нашего эксперимента снижается коэффициент соотношений ФХ/ФК на 29,1% ( $p < 0,01$ ), что свидетельствует о существенном подавлении процессов синтеза мембранных глицеролипидов. Известно, что ФК обладают высокой скоростью метаболизма и играют значительную роль в биосинтезе других фосфолипидов [7]. Поэтому повышение ФК является как следствием деградации фосфолипидов, так и результатом нарушения синтетических процессов. Следует отметить повышенное содержание МФИ в головном

мозге у крыс на 30-е сутки хронической интоксикации ДХЭ. Монофосфоинозитид, участвуя в фосфатозитидном цикле, влияет на организацию холинорецептора и тем самым отвечает за синаптическую передачу нервного импульса [4, 24]. Выявленная модификация фосфолипидного матрикса клетки свидетельствует о структурно-функциональной несостоятельности цитоплазматической мембраны.

Таким образом, на 30-е сутки хронической интоксикации ДХЭ у крыс развиваются адаптационные изменения в фосфолипидном спектре головного мозга, однако при этом превалирует деградация фосфолипидов. Полагают, что деградация фосфолипидного состава является одной из причин повышения ХС в мембране при патологии. В результате повышенной активности фосфолиполиза и свободно-радикального окисления происходит разрушение фосфолипидных молекул, вследствие чего уменьшается их содержание в мембране, они замещаются на молекулы ХС [8].

На 60-е сутки хронической интоксикации ДХЭ направленность изменений в фосфолипидном составе полушарий головного мозга была однотипной с 30-ми сутками интоксикации, но эти изменения были более выраженными. Уменьшение содержания суммарных фосфолипидов составило 17,64% ( $p < 0,05$ ). Однако снижение содержания ФЭ сопровождалось одновременным уменьшением количества ФС на 34,6% ( $p < 0,001$ ) относительно 2-й группы животных. Данное обстоятельство можно связать с тем, что они наиболее быстро подвергаются окислению свободными радикалами при усилении процессов перекисного окисления липидов. Снижение содержания ФС, а также значительное накопление ФК свидетельствуют о делипидизации мембран, что можно трактовать как срыв защитно-приспособительных реакций. Содержание монофосфоинозиотида на 60-е сутки хронической интоксикации ДХЭ снизилось на 22,77% ( $p < 0,05$ ) относительно животных 2-й группы. Фосфоинозитиды и их метаболиты принимают участие в реализации действия нейромедиаторов на молекулярном уровне, а также являются одним из поставщиков арахидоновой кислоты и эйкозаноидов и тем самым играют важную роль в обеспечении нормального функционирования нервных клеток [17, 21, 25].

Важным показателем, характеризующим лабильность липидного бислоя, служит коэффициент асимметрии  $(ФЭ+ФС)/(ФХ+СМ)$ . Отношение суммы фосфолипидов с меньшей насыщенностью жирных кислот, которые располагаются преимущественно во внутреннем монослое липидного бислоя мембран, к фосфолипидам с большей насыщенностью, которые располагаются во внешнем монослое, позволяет получить представления о жидкости мембраны. На 60-е сутки хронической интоксикации ДХЭ значение коэффициента асимметрии ниже контрольной величины на 13,2% ( $p < 0,05$ ), что обуславливает повышение насыщенности липидного бислоя и увеличение микровязкости.

В результате структурной модификации липидного слоя мембраны изменяется конформация встроенных в них белков. Известно, что активность и свойства транспортных АТФаз плазматических мембран в значительной степени определяются структурными особенностями липидного матрикса, в который погружены молекулы фермента [16]. Исходя из этого нами была проведена оценка активности липидзависимых и мембраносвязанных ферментных систем – ионтранспортных АТФаз клеточных мембран головного мозга. Результаты, представленные в таблице 2, свидетельствуют о снижении активности Na,K-АТФазы на 16,42% ( $p < 0,05$ ) на 30-е сутки интоксикации ДХЭ с одновременным повышением общей АТФазной активности и деятельности Mg АТФаз. На 60-е сутки хронической интоксикации ДХЭ активность Na,K-АТФазы снизилась на 20,16% ( $p < 0,05$ ), при этом наблюдалось заметное ингибирование общей АТФазной активности и деятельности Mg АТФаз. Возрастание содержания лизофракций в мембранах делает возможным переход липидного бислоя в монослой с нарушением проницаемости мембраны для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , образованием гидрофильных каналов и солюбилизацией ферментов [14]. Дезорганизация липидного слоя мембраны может явиться причиной утраты способности клеток регулировать ионный гомеостаз. Проведенный нами корреляционный анализ выявил корреляционную связь между активностью Na,K-АТФазы и содержанием ЛФХ ( $r = -0,89$ ,  $p = 0,003$ ) на 60-е сутки хронической интоксикации ДХЭ.

Таблица 2

АТФазная активность мембран из больших полушарий головного мозга крыс при хронической интоксикации ДХЭ ( $M \pm m$ )

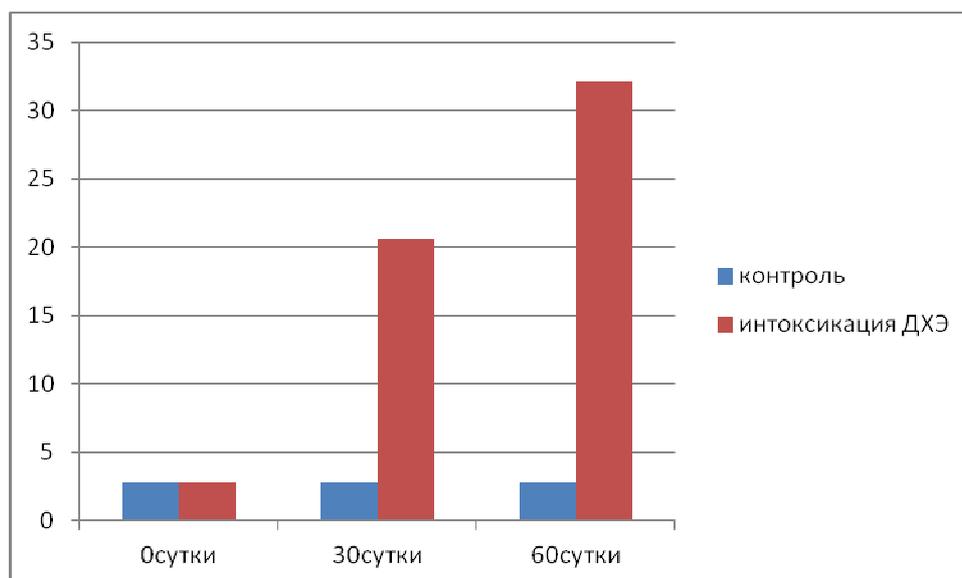
Исследуемый показатель	Группы животных		
	1-я группа (n=16)	2-я группа (n=16)	3-я группа (n=16)
АТФаза (общая), мкмоль $P_i \cdot \text{мг белка}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$	18,81 $\pm$ 0,5	19,65 $\pm$ 0,73	16,11 $\pm$ 0,56* <sup>^</sup>
Mg-АТФаза мкмоль $P_i \cdot \text{мг белка}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$	12,66 $\pm$ 0,52	14,51 $\pm$ 0,52*	11,2 $\pm$ 0,57 <sup>^</sup>
Na,K-АТФаза мкмоль $P_i \cdot \text{мг белка}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$	6,15 $\pm$ 0,3	5,14 $\pm$ 0,35*	4,91 $\pm$ 0,36*

Примечание: \* — достоверно ( $p < 0,05$ ) по сравнению с 1-й (контрольной) группой

<sup>^</sup> — достоверно ( $p < 0,05$ ) 3-й группы по сравнению со 2-й группой

$\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  насос формирует на мембране нервной клетки электрохимический градиент, энергия которого используется для процессов возбуждения, транспорта аминокислот, сахаров и других метаболитов через плазматическую мембрану. Ингибирование фермента снижает трансмембранные градиенты ионов, вызывает чрезмерное поступление в нейроны  $\text{Na}^+$  с последующим притоком  $\text{Cl}^-$  и воды, что приводит к клеточному отеку [12]. Изменения биоэлектрических свойств мембран нервных клеток создают предпосылки для развития

функциональных расстройств со стороны ЦНС. В серии экспериментов были оценены неврологические отклонения и ориентировочно-исследовательская деятельность у крыс при хронической интоксикации ДХЭ. При оценке неврологического статуса крыс особое внимание уделяется поведенческим реакциям животных, изменениям рефлекторной деятельности, координационно-двигательным расстройствам. При этом отражается состояние различных уровней центральной нервной системы. Иерархия уровней включает спинной мозг (рефлекс сгибания), продолговатый мозг (роговичный рефлекс), средний мозг (рефлекс равновесия, зрачковые реакции) и кору головного мозга (реакция постановки лап на опору, хватание, тесты для исследования равновесия). Динамика показателей неврологического статуса показана на рисунке 1, из которого следует, что у животных на 30-е сутки хронической интоксикации ДХЭ развивается неврологический дефицит легкой степени. При углублении интоксикации на 60-е сутки действия ДХЭ неврологический дефицит становится более выраженным, увеличиваясь до  $32,13 \pm 4,77$  баллов ( $p < 0,05$ ).



*Рис. 1. Показатели неврологического статуса (баллы) у крыс при хронической интоксикации ДХЭ (n=8 в каждой группе)*

Ориентировочно-исследовательская деятельность крыс на 30-е сутки хронической интоксикации ДХЭ характеризуется угнетением всех ее составляющих (рис. 2, 3). Возрастает продолжительность латентного периода с  $5,5 \pm 0,94$  до  $13,25$  с ( $p < 0,05$ ), снижается горизонтальная (количество пересеченных линий) и вертикальная (количество вертикальных стоек) двигательная активность на  $20,55\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $19,0\%$  ( $p < 0,05$ ) соответственно, количество обследованных норок уменьшается в  $1,63$  раза ( $p < 0,05$ ), наблюдаются значительные изменения в эмоциональном компоненте (груминг). На 60-е сутки

хронической интоксикации ДХЭ изменения в ориентировочно-исследовательской активности у крыс были однонаправленными с 30-ми сутками, но более выраженными.

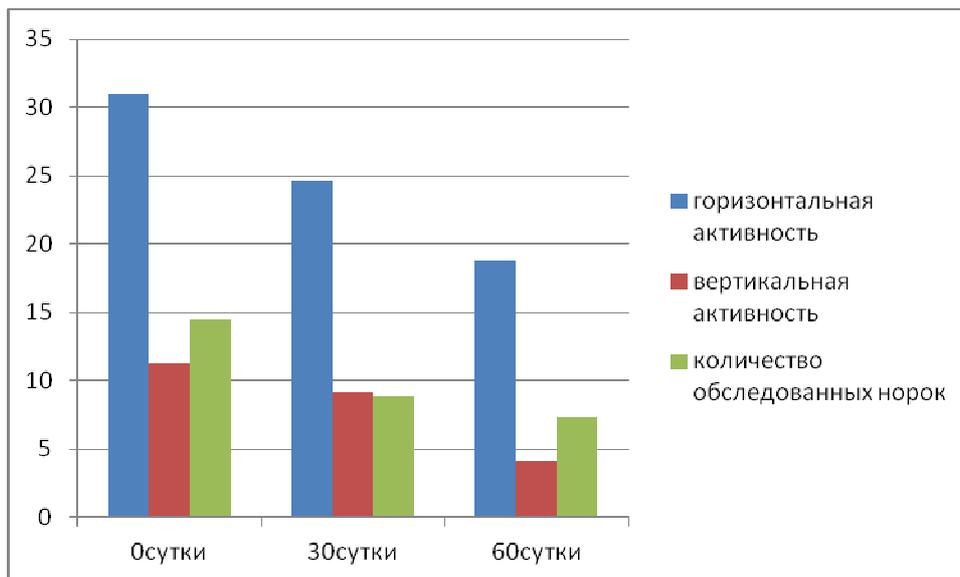


Рис. 2. Показатели горизонтальной, вертикальной активности и количество обследованных норок у крыс при хронической интоксикации ДХЭ ( $n=8$  в каждой группе)

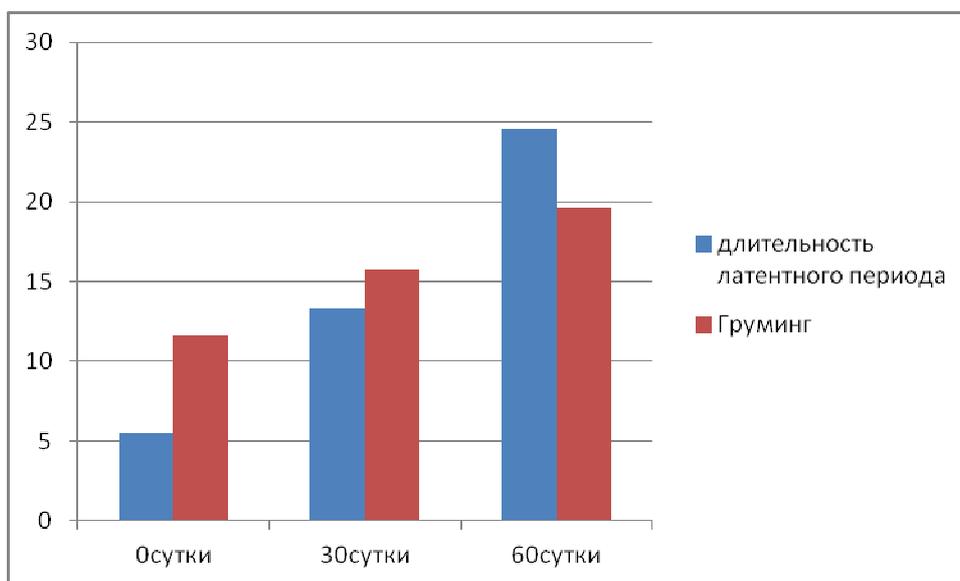


Рис. 3. Показатели длительности латентного периода и груминга (секунд) у крыс при хронической интоксикации ДХЭ ( $n=8$  в каждой группе)

Таким образом, полученные нами данные позволяют считать, что клеточные мембраны головного мозга при хронической интоксикации ДХЭ претерпевают существенные изменения. В результате структурных нарушений мембран нервных клеток могут изменяться их функциональные свойства, способность регулировать ионный гомеостаз, что в конечном счете может привести к значительным метаболическим и функциональным расстройствам.

Выявленные нарушения клеточных мембран являются важным звеном в патогенезе нейротоксического действия ДХЭ при хронической интоксикации. Степень выраженности структурно-функциональных изменений мембран зависит от длительности патологического процесса.

### Список литературы

1. Андреева Н.Н. Коррекция мексидолом постреанимационных изменений липидного обмена мозга / Н.Н. Андреева, И.В. Мухина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68, № 3. – С. 37–41.
2. Волчегорский И.А. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И.А. Волчегорский // Челябинск, 2000. – С. 26–32.
3. Гембицкий Е.В. О механизме токсического действия дихлорэтана / Е.В. Гембицкий, Ю.Ю. Бонитенко // Воен.-мед. журн. – 1983. — № 9. – С. 17–19.
4. Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функция / Р. Геннис // М.: Мир, 1997. – 624 с.
5. Идрисова Л.Т. Балльная оценка неврологического статуса крыс при алкогольной коме и влияние на нее лазерной физиотерапии / Л.Т. Идрисова, Д.А. Еникеев, Г.А. Байбурина // Клиническая медицина и патофизиология. – 1999. – Т. 32. – С. 75–79.
6. Кейтс М. Техника липидологии / М. Кейтс // М.: Мир, 1975. – 324 с.
7. Климов А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева. СПб.: Питер, 1999. – 505 с.
8. Кравец Е.Б. Липидный состав и активность Na,K-АТФазы мембраны эритроцитов у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа при дислипидотеинемиях / Е.Б. Кравец, Е.А. Степовая, Т.Ю. Кошовец и др. // Сахарный диабет. – 2010. – № 1. – С. 41–44.
9. Лужников Е.А. Метаболизм 1,2 дихлорэтана в организме человека после острых отравлений / Е.А. Лужников, Т.А. Лесовик, Т.А. Новиковская // Суд.-мед. экспертиза. – 1985. – № 2. – С. 47–49.
10. Лужников Е.А. Острые отравления: Руководство для врачей. Изд. 2-е, перераб. и доп. / Е.А. Лужников, Л.Г. Костомарова. М.: Медицина, 2000. – 434 с.
11. Молочкина Е.М. Количественное определение состава фосфолипидов методом тонкослойной хроматографии / Е.М. Молочкина // В сб.: Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo*. – М.: Наука, 1992. – С. 100–102.
12. Мохамед М.Т. Влияние даларгина на активность Na,K-АТФазы мембран синапсом из коры головного мозга при ишемии и реперфузии // М.Т. Мохамед, Н.К. Кличханов //

Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 260–263.

13. Новгородцева Т.П. Состав липидов эритроцитов крыс при развитии фиброза печени в условиях алиментарной дислипидемии / Т.П. Новгородцева, Ю.К. Караман, Н.В. Бивалькевич, Н.В. Жукова // Бюллетень СО РАМН. – 2010. — Т. 30, № 1. — С. 53–57.

14. Новицкий В.В. Липидный спектр мембран эритроцитов у онкологических больных / В.В. Новицкий, Е.А. Степовая, Н.Г. Баженова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – Т. 126, № 8. – С. 204–206.

15. Реброва Т.Ю. Особенности фосфолипидного состава мембран эритроцитов в условиях постинфарктного кардиосклероза / Т.Ю. Реброва, Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев // Сиб. мед. журн. – 2011. – Т. 26, № 1. – С. 131–134.

16. Рязанцева Н.В. Структурные нарушения и изменения активности Na,K-АТФазы в мембране эритроцитов у пациентов с невротическими расстройствами / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, № 7. – С. 85–88.

17. Суняйкина О.А. Иммуномодулирующие эффекты совместного применения регуляторов энергетического обмена и полиненасыщенных фосфолипидов Текст. / О.А. Суняйкина, М.В. Павлова, К.И. Суняйкин // Аллергология и иммунология. 2008. — Т. 9, № 3. — С. 359.

18. Толстухина Т.И. Определение Na,K-активируемой, Mg-зависимой АТФазной активности в субклеточных фракциях / Т.И. Толстухина // В кн.: Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л., 1982. – С. 258–260.

19. Ansell G.B. Phospholipids and the nervous system / G.B. Ansell, I.N. Hawthorne, R.M.G. Dawson // In: Form and function of phospholipids. – Amsterdam-London. : Elsevier, 1973. – P. 377–422.

20. Bastiaanse E.M. The effects of membrane cholesterol content on ion transport processes in plasma membranes / E.M. Bastiaanse, M. Lars Hold Karin, Arnoud Van Der Laarse // Cardiovasc. Res. – 1997. – Vol. 33, № 2. – P. 272–283.

21. Chilton F.N. Lipid mediators of allergic reaction / F.N. Chilton, L.M. Lichtenstein // Chem. Immunol. – 1990. – Vol. 49. – P. 173–205.

22. Domdorf W. Dichloroethane poisoning with myoclonic syndrome, epileptic attacks and irreversible cerebral effects / W. Domdorf // Arch. Psychiatr. Nervenkr. – 1975. – Vol. 220, № 3. – P. 373–379.

23. Farooqui A.A. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders / A.A. Farooqui, L.A. Horrocks, T. Farooqui // Chem. Phys. Lipids. – 2000. – V. 106, № 1. – P. 1–29.
24. Pacheco M.A. Phosphoinositide signaling in human brain / M.A. Pacheco, R.S. Jope // Progress in Neurobiology. – 1996. – Vol. 50, № 2-3. – P. 255–273.
25. Reisberg B. A 24-Week Open-Label Extension Study of Memantine in Moderate to Severe Alzheimer Disease / B. Reisberg, R. Doody, A. Stoffler et al // Arch. Neurol. – 2006. – Vol. 63. – P. 49–54.
26. Skidmore W.D. Two dimensional thin-layer chromatography of rat liver phosphatides / W.D. Skidmore, C. Entenman // J.Lipid Res. – 1962. – Vol. 3, № 3. – P. 471–474.

**Рецензенты:**

Миннебаев М.М., д.м.н., профессор кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань;

Фролов Б.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия», г. Оренбург.