



УДК 577.352:612.822

© 2011

Л. В. Корчинська, Д. М. Ноздренко, М. С. Мірошниченко

## Порівняння впливу піриміфосметилу та діазинону на скоротливу активність скелетних м'язів

(Представлено членом-кореспондентом НАН України С. О. Костеріним)

*Встановлено залежно-концентраційне пригнічення скоротливої активності скелетних м'язів при дії діазинону та піриміфосметилу. Показано, що вплив цих фосфороорганічних інсектицидів на силову продуктивність м'язів відрізняється як концентраційно, так і за характером силової відповіді на стимулювальний сигнал. Виявлено більш виражений інгібіторний вплив піриміфосметилу на динамічні параметри м'язового скорочення порівняно з діазиноном.*

Фосфороорганічні сполуки завдяки своїй високій ефективності в боротьбі з різними видами комах та порівняно низькій стійкості в навколишньому середовищі складають вагомую частину пестицидів, застосовуваних у сучасному сільському господарстві [1]. На сьогодні як інсектицидні препарати використовується понад 100 різних фосфороорганічних сполук [2]. Поширення цих речовин є причиною значної кількості випадків інтоксикації; щорічно в світі їх нараховується близько 3 000 000 [1, 3].

Основний механізм токсичної дії всіх фосфороорганічних інсектицидів — пригнічення активності ферментів естераз, зокрема ацетилхолінестерази, шляхом фосфорилування серинового залишку в їх активному центрі. Проте такі фосфоровмісні інсектициди, як фосфоротіоати є непрямыми інгібіторами ацетилхолінестерази, тобто потребують попередньої активації в організмі шляхом окиснення в оксоформу [4]. Прикладами фосфоротіоатів є речовини, такі як піриміфосметил і діазинон.

Раніше було досліджено порушення роботи імунної, ендокринної, нервової та статеві системи під дією фосфороорганічних пестицидів [5, 6] та показано їх вплив на функціонування скелетних м'язів [7–9]. При отруєнні орґанофосфатами може спостерігатися слабкість, тремтіння, фасцикуляція, а також параліч скелетних м'язів [10]. Однак на сьогодні не існує єдиної думки в поглядах щодо механізму, який зумовлює зазначені порушення. Здебільшого зміни в роботі м'язової системи розглядаються як вторинні наслідки інактивації ацетилхолінестерази [9, 11, 12]. Останнім часом отримано експериментальні дані, що

передбачають залучення інших молекулярних механізмів токсичної дії фосфороорганічних інсектицидів [13–15]. Крім того, показано невідповідність між рівнем токсичності (значення  $LD_{50}$ ) та інтенсивністю інгібування ацетилхолінестерази для деяких фосфоротіоатів. Встановлено, що токсичність різних фосфороорганічних інсектицидів відмінна навіть при їх дії в концентраціях, в яких відбувається рівноцінне пригнічення активності ацетилхолінестерази.

Залишається незрозумілим, яким чином відрізняється вплив різних фосфоротіоатів на скоротливу активність скелетних м'язів незалежно від їх холінергічних ефектів. Вивчення зміни динамічних параметрів скорочення при безпосередній дії на м'яз певних концентрацій діазинону та піриміфосметилу є необхідним етапом для порівняння їх міотоксичних властивостей.

**Матеріали та методи досліджень.** Досліди проводили на волокнах м'яза *m. tibialis anterior*, виділених із задньої кінцівки жаби *Rana temporaria*. Експеримент відбувався в ізотонічному режимі при дискретній фіксації динамічних параметрів м'язового скорочення та постійному контролі зовнішнього навантаження. В ході експерименту використовували розчини піриміфосметилу й діазинону в концентраціях  $1,0 \cdot 10^{-6}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-6}$ ,  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л.

Стимуляцію здійснювали електричними імпульсами прямокутної форми впродовж 2 мс, які формували за допомогою генератора імпульсів, керованим ЦАП, через платинові електроди. Тривалість стимулювального сигналу 3000 мс з частотою 30 Гц. Його характеристики задавали програмно і передавали з комплексу АЦП–ЦАП на генератор з часом затримки не більш ніж 0,007 мс.

Досліди проводили в розчині Рінгера з періодом релаксації 3 хв. Зміну сили реєстрували п'єзодатчиком з системою підсилювачів; зміну довжини препарату реєстрували за допомогою системи, виготовленої на базі комплексу фотоелектронного помножувача, трипроменевого квантового генератора та системи рухомих фіксаторів. Зовнішнє навантаження на досліджуваний препарат здійснювали з використанням системи механостимулятора. Статистичну обробку результатів дослідження проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 7.0. При побудові графіків враховували відносну та абсолютну похибки експерименту.

**Результати та обговорення.** Аналізуючи зміни параметрів м'язового скорочення нами побудовано графіки залежності сили скорочення і зміни довжини при постійному зовнішньому навантаженні та дії різних концентрацій пестициду.

Результатами досліджень встановлено, що вірогідні зміни динамічних параметрів скорочення відзначали при дії діазинону в діапазоні концентрацій від  $10^{-6}$  до  $10^{-5}$  моль/л. Концентраційний діапазон впливу піриміфосметилу на динаміку скорочення скелетних м'язів значно відрізнявся. Вірогідне зниження силової продуктивності та зміни довжини пучків волокон м'язів спостерігається, починаючи з концентрації  $7,5 \cdot 10^{-8}$  моль/л. Причому повне пригнічення скоротливої активності скелетного м'яза відбувалося при дії піриміфосметилу в концентраціях, що перевищують значення  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л. Отже, порівняння дії даних фосфороорганічних інсектицидів на скоротливу активність скелетних м'язів здійснювали у концентраціях  $1,0 \cdot 10^{-6}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-6}$  й  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л.

Під впливом діазинону в концентрації  $1,0 \cdot 10^{-6}$  моль/л відбувалося зниження силової продуктивності м'яза на 15,9% порівняно з контрольними значеннями. При цьому час утримання досягнутого рівноважного положення зменшився майже на 25%. Тобто, при дії вказаної концентрації діазинону спостерігається втрата м'язом здатності утримувати тетанічний рівень сили впродовж усієї тривалості стимулювального сигналу (рис. 1).

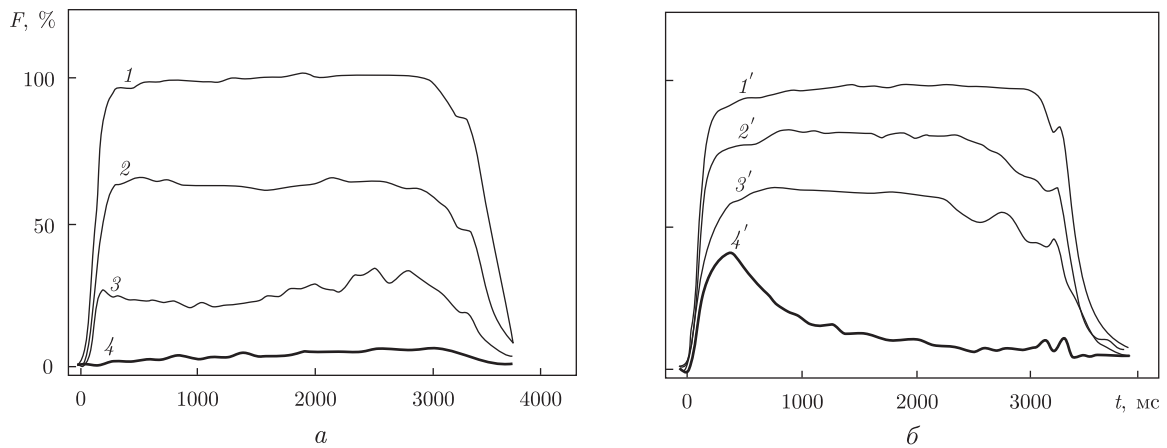


Рис. 1. Зміна силової продуктивності скелетного м'яза під дією фосфоорганічних інсектицидів у концентраційному діапазоні від  $1 \cdot 10^{-6}$  до  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л; а — піриміфосметил; б — діазинон.  
Концентрація інсектицидів, моль/л: 1, 1' — контроль; 2, 2' —  $1,0 \cdot 10^{-6}$ ; 3, 3' —  $2,5 \cdot 10^{-6}$ ; 4, 4' —  $5,0 \cdot 10^{-6}$

Піриміфосметил в концентрації  $1,0 \cdot 10^{-6}$  моль/л викликав зниження рівня генерації сили м'язом на 34,7%, що майже в 2,2 раза перевищує відповідні значення, які отримано при дії діазинону. При цьому час утримання досягнутого рівноважного положення не змінювався.

Рівень силової продуктивності при дії діазинону й піриміфосметилу в концентрації  $2,5 \cdot 10^{-6}$  моль/л знижувався порівняно з контролем на 36 й 73% відповідно. При використанні діазинону в концентраціях  $1,0 \cdot 10^{-6}$  й  $2,5 \cdot 10^{-6}$  моль/л на фоні лінійного зниження сили відбувається зменшення швидкості її наростання, подібні зміни при дії піриміфосметилу в цих концентраціях не відзначалися.

При дії розчину діазинону в концентрації  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л спостерігалась яскраво виражена нелінійність силової відповіді на прикладену стимуляцію. Рівень сили, яку м'яз розвивав на початковому етапі скорочення, стрімко знижувався при подальшій тривалості стимулювального сигналу до нового, меншого за значенням, рівноважного положення. Рівень максимальної силової продуктивності м'яза при цьому зменшився на 40,4% порівняно з контролем, тоді як зниження сили на рівні, що відповідав встановленню рівноважного стаціонарного стану скорочення, становило 76,3%. При дії піриміфосметилу в концентрації  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л відбувалося майже повне пригнічення силової продуктивності скелетного м'яза. Отже, незважаючи на те, що обидва інсектициди за своєю природою є складними ефірами тіофосфорної кислоти, їх вплив на силову продуктивність скелетних м'язів відрізняється як концентрацією, так і за характером силової відповіді на стимулювальний сигнал.

Іншим динамічним параметром м'язового скорочення, зміну якого нами проаналізувано під впливом досліджуваних інсектицидів, є довжина м'яза. Зменшення зміни довжини м'яза при скороченні під дією діазинону також характеризувалось яскраво вираженою концентраційною залежністю. Максимальне зниження зміни довжини м'яза при використанні розчину діазинону в концентраціях  $1,0 \cdot 10^{-6}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-6}$ ,  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л становило відповідно 88,8, 56,9, 22,7% від контрольного значення (рис. 2). З підвищенням концентрації діазинону ступінь зміни довжини м'яза зменшувався майже лінійно як при збільшенні частоти стимулювального сигналу, так і при її постійному рівні.

У межах досліджуваного концентраційного діапазону зменшення зміни довжини під дією діазинону переважало у відсотках відповідні показники сили скорочення м'яза. Кон-

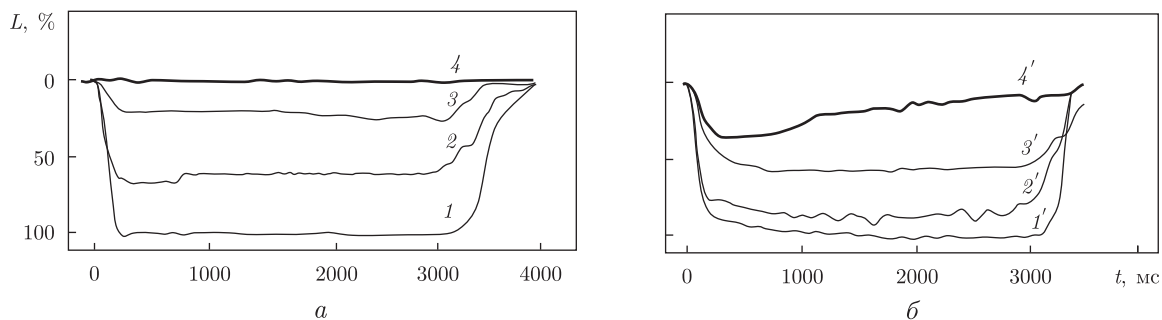


Рис. 2. Зміна довжини скорочення скелетного м'яза під дією фосфороорганічних інсектицидів у концентраційному діапазоні від  $1 \cdot 10^{-6}$  до  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л: а — піриміфосметил; б — діазинон.

Концентрація інсектицидів, моль/л: 1, 1' — контроль; 2, 2' —  $1,0 \cdot 10^{-6}$ ; 3, 3' —  $2,5 \cdot 10^{-6}$ ; 4, 4' —  $5,0 \cdot 10^{-6}$

центраційна залежність зміни довжини м'яза при скороченні спостерігалася й при дії піриміфосметилу. Зниження зміни довжини м'яза при використанні розчинів піриміфосметилу в концентраціях  $1,0 \cdot 10^{-6}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-6}$  моль/л становило відповідно 62,3, 22,5% від контрольного значення. Під впливом піриміфосметилу в концентрації  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л зміна довжини м'яза при скороченні не відзначалася. При цьому зниження рівня сили та зміна довжини мала менш виражений характер, ніж при дії діазинону.

Відмивання м'язових препаратів розчином Рінгера не супроводжувалося відновленням динамічних параметрів скорочення. Тобто, припинення дії інсектициду не призводить до відновлення початкового функціонального стану м'яза.

Оскільки біомеханічні властивості скелетних м'язів залежать від механічних властивостей структурних елементів та механічних характеристик взаємодії голівок молекул міозину з актином, то можливо, що отримані в дослідженнях зміни динамічних параметрів пов'язані з порушенням структури та механізму скорочення скелетних м'язів під впливом фосфоротіоатів.

Таким чином, при безпосередній дії на скелетні м'язи таких фосфороорганічних інсектицидів, як піриміфосметил і діазинон відбувається пригнічення їх скоротливої активності. Причому вплив обох фосфороорганічних інсектицидів на динамічні параметри скорочення характеризується вираженою концентраційною залежністю.

Незважаючи на те що за значенням  $LD_{50}$  рівень токсичності діазинону переважає над рівнем токсичності піриміфосметилу, однак результатами наших досліджень доведено більш виражений інгібіторний вплив останнього на динамічні параметри м'язового скорочення.

1. Kwong K. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology // Ther. Drug. Monit. – 2002. – **24**. – P. 144–149.
2. Lotti M. Low-level exposures to organophosphorous esters and peripheral nerve function // Muscle Nerve. – 2002. – **25**. – P. 492–504.
3. Forget G. Pesticides and the third world // J. Toxicol. and Environ. Health. – 1991. – **32**. – P. 11–31.
4. Balali-Mood M., Balali-Mood K. Neurotoxic disorders of organophosphorus compounds and their managements // Arch. Iranian Med. – 2008. – **11**, No 1. – P. 65–89.
5. Sultatos L. G. Mammalian toxicology of organophosphorous pesticides // J. Toxicol. and Environ. Health. – 1994. – **43**. – P. 271–289.
6. Ferdinand N., Pierre W., Marie-Chantal D. Effects of pirimiphos-methyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats // Afr. Health Sci. – 2007. – **7**, No 1. – P. 3–9.
7. Karalliede L., Henry J. A. Effect of organophosphates on skeletal muscle // Hum. Exp. Toxicol. – 1993. – **12**. – P. 289–296.

8. *Miranda J., McConnell R., Wesseling C. et al.* Muscular strength and vibration thresholds during two years after acute poisoning with organophosphate insecticides // *Occup. Environ. Med.* – 2004. – **61**, No 1. – P. 4–7.
9. *Thiermann H., Eyer P., Worek F., Szinicz L.* Effects of oximes on muscle force and acetylcholinesterase activity in isolated mouse hemidiaphragms exposed to paraoxon // *Toxicology.* – 2005. – **214**, No 3. – P. 190–197.
10. *Gupta R. C.* Toxicology of organophosphate and carbamate compounds. – New York: Acad. Press, 2006. – 763 p.
11. *John M., Ommen A., Zachariah A.* Muscle injury in organophosphorus poisoning and its role in the development of intermediate syndrome // *Neurotoxicol.* – 2003. – **24**. – P. 43–53.
12. *Yang Z. P., Dettbarn W. D.* Lipid peroxidation and changes in cytochrome c oxidase and xanthine oxidase activity in organophosphorous anticholinesterase induced myopathy // *J. Phys. Paris.* – 1998. – **92**. – P. 157–161.
13. *Duysen E. G., Li B., Xie W. et al.* Evidence for nonacetylcholinesterase targets of organophosphorus nerve agent: Supersensitivity of acetylcholinesterase knockout mouse to VX lethality // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2001. – **299**. – P. 528–535.
14. *Li B., Stribley J. A., Ticu A. et al.* Abundant tissue butyrylcholinesterase and its possible function in the acetylcholinesterase knockout mouse // *J. Neurochem.* – 2000. – **75**. – P. 1320–1331.
15. *Chan J. Y., Chan S. H., Dai K. Y. et al.* Cholinergic-receptor-independent dysfunction of mitochondrial respiratory chain enzymes, reduced mitochondrial transmembrane potential and ATP depletion underlie necrotic cell death induced by the organophosphate poison mevinphos // *Neuropharmacology.* – 2006. – **51**, No 7/8. – P. 1109–1119.

ННЦ “Інститут біології” Київського національного  
університету ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 20.04.2011

**L. V. Korchynska, D. M. Nozdrenko, M. S. Miroshnichenko**

### **Comparison of the influences of pyrimiphos-methyl and diazinon on skeletal muscle contraction activity**

*The concentration-dependent reduction of skeletal muscle contraction activity under the influence of diazinon and pyrimiphos-methyl is found. It is shown that the influences of these organophosphorus insecticides on the muscle force generation differ in the concentration and the force response pattern on a stimulation signal. The more expressed inhibitory effect of pyrimiphos-methyl on the dynamical parameters of contraction in comparison to diazinon is revealed.*