

УДК 613.632:615.36  
© Коллектив авторов

## **ВЛИЯНИЕ ЯДА СРЕДНЕАЗИАТСКОЙ КОБРЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ И СЕРДЦА КРЫС И ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ БЕНЗОНАЛА**

**И.А. Ширинова, Ш.Ш. Нурдинов, Л.С. Клемешева, К.Т. Алматов**

Национальный Университет Узбекистана им. М.Улугбека,  
700174 Ташкент, Вуз городок.  
тел.: 118-85-44, тел.(факс) - 144-77-28, эл. почта: Kalmatov@bk.ru

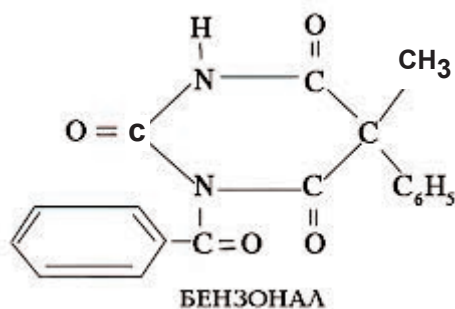
После введения в организм крыс яда кобры в митохондриях печени и сердца уровень кардиолипидов уменьшается в 1,88 и 1,82 раза, фосфатидилэтаноламинов - в 1,56 и 1,42 раза и фосфатидной кислоты - в 1,14 и 1,29 раза. Содержание фосфатидилхолинов повышается в 1,42 и 1,51 раза. В митохондриях печени содержание фосфатидилинозитов увеличивается в 3,09 раза, а в митохондриях сердца, напротив, уменьшается в 1,28 раза. После введения бензонала на фоне действия яда кобры в митохондриях печени содержание фосфатидилсерина не только возвращается к норме, но и несколько превышает её. Несмотря на однотипность характера изменений содержания других фракций фосфолипидов в митохондриях тканей нелеченных и леченных бензоналом животных, процент отклонения их содержания от нормы под влиянием яда кобры при лечении оказывается минимальным. Бензонал в митохондриях печени и сердца уменьшает содержание фосфатидной кислоты в 1,36 и 1,7 раза.

**Ключевые слова:** Крыса, печень, сердце, митохондрии, фосфолипиды, яд среднеазиатской кобры *Naja naja oxiana Echwald*, бензонал.

**ВВЕДЕНИЕ.** Известно, что при отравлении ядом среднеазиатской кобры *Naja naja oxiana Echwald* нарушаются структура и функции органов и тканей, причем наиболее глубокие изменения отмечаются в митохондриях [1,2]. Недавно нами было показано, что введение в организм животных бензонала на фоне действия яда среднеазиатской кобры, приводит к увеличению продолжительности жизни животных [3,4]. Повышение устойчивости животных к действию яда кобры зависит от срока введения бензонала. Чем раньше после поступления яда вводится препарат, тем менее выражены последствия действия яда и продолжительней жизнь животных. После введения бензонала на фоне действия яда кобр скорость потребления кислорода уменьшается по сравнению с контрольными животными. Это означает, что бензонал регулирует дыхательную функцию организма, создает благоприятные условия для работы при кислородном голодании. При этом параметры углеводного обмена в крови нормализуются. Наблюдается умеренная интенсификация гликолиза с сохранением нормального уровня гликогена в тканях. Одновременно по сравнению с показателями контрольных животных на фоне стабильности содержания лактата отмечается тенденция к повышению уровня глюкозы и пирувата. Присутствие бензонала в ткани мозга предупреждает

усиление гликолиза, в связи с чем практически не наблюдается повышения уровня лактата и снижения уровня пирувата. Учитывая полученные результаты, представляет интерес изучение воздействия яда кобры на фосфолипидный обмен мембран митохондрий различных органов и тканей.

Известно, что основная функция биологических мембран состоит в обеспечении структурной организации клеток и внутриклеточных органоидов, а также поддержании постоянства физико-химических характеристик цитозоля. Фосфолипиды мембран образуют гидрофобную “жидкую” матрицу, с которой могут связываться функциональные белки и играют важную роль в регуляции свойств мембран [5,6].



В настоящей работе мы задались целью проследить закономерности в количественных сдвигах различных фракций фосфолипидов в мембранах митохондрий печени и сердца крыс после отравления животных ядом среднеазиатской кобры без применения и с применением бензонала.

**МЕТОДИКА.** Эксперименты проведены на белых крысах-самцах массой тела 120-130 г, содержащихся на стандартном пищевом рационе в условиях вивария. Животных разделили на 3 группы по 16 животных в каждой. В первой и второй группах животных яд среднеазиатской кобры *Naja naja oxiana* Echwald животным вводили внутримышечно в дозе 160 мкг/кг веса. Через 2 мин животным второй группы дополнительно вводили бензонал - 50 мг/кг веса. Третья группа крыс получала физиологический раствор. Через 15 мин после введения яда кобры животных декапитировали. Яд среднеазиатской кобры получали из института зоологии АН РУз. В работе были использованы образцы яда коллекции 2001 г, высушенного в эксикаторе над хлористым кальцием.

Выделение митохондрий из ткани сердца и печени проводили по ранее описанной методике [7]. Белок определяли по Лоури [8].

Фосфолипиды митохондрий экстрагировали по методу Кейтса [9]. Фосфолипидный состав митохондрий анализировали методом двумерной тонкослойной хроматографии [10].

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Результаты исследований показали значительное снижение содержания кардиолипинов (в 1,88 раза) и фосфатидилэтаноламинов (в 1,56 раза) в митохондриях печени после введения в организм животных яда кобры (табл.1). При этом обнаруживается повышение содержания фосфатидилхолинов (в 1,42 раза), фосфатидилинозитов (в 3,09 раза) и незначительное снижение фракции фосфатидилсеринов (в 1,09 раза) и фосфатидной кислоты (в 1,15 раза). Наблюдаемые изменения, по видимому, являются прямым следствием гидролитического действия фосфолипазы  $A_2$  яда кобры [11] и нарушением энзиматических реакций метилирования, декарбоксилирования, обмена оснований и трансалкилирования, протекающих в ткани печени. Можно допустить, что при отравлении ядом кобры, фосфолипаза  $A_2$  яда в первую очередь гидролизует кардиолипид и фосфатидилэтаноламин.

Таблица 1 Изменение содержания фосфолипидов митохондрий печени крыс при действии яда кобры и защитный эффект бензонала (в % от общего содержания фосфолипидов).

Фосфолипиды	Интактные животные	Животные, отравленные ядом кобры	
		Бензонал	Контроль
Фосфатидилхолин	48,30±0,68	62,60±0,53 <sup>***</sup>	68,50±0,42 <sup>****</sup>
Фосфатидилэтаноламин	22,30±0,64	13,90±1,53 <sup>****</sup>	9,90±0,19 <sup>****</sup>
Кардиолипин	6,87±0,23	1,67±0,13 <sup>****</sup>	0,85±0,65 <sup>****</sup>
Фосфатидилсерин	4,83±0,22	5,73±0,16 <sup>**</sup>	4,40±0,08 <sup>*</sup>
Фосфатидилинозит	2,43±0,49	6,10±0,14 <sup>****</sup>	7,50±0,11 <sup>****</sup>
Фосфатидная кислота	6,23±0,61	3,97±1,28 <sup>****</sup>	5,33±0,25 <sup>*</sup>
Неидентифицированные фосфолипиды	9,04±1,31	6,03±0,37 <sup>**</sup>	3,52±0,67 <sup>****</sup>
Фосфатидилхолин / фосфатидилэтаноламин	2,16	4,50	6,92
Нейтральные фосфолипиды (НФЛ)	48,30±0,68	62,00±0,53 <sup>***</sup>	68,50±0,42 <sup>****</sup>
Кислые фосфолипиды (КФЛ)	35,79±1,96	29,70±3,11	27,13±0,63 <sup>*</sup>
Коэффициент НФЛ/КФЛ	1,35	2,10	2,52

Примечание. Здесь и в таблице 2 коэффициент достоверности обозначен звездочками: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,02$ , \*\*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*\*  $p < 0,001$ . В каждой группе было по 6-8 животных.

Яд кобры, на наш взгляд, ускоряет синтез фосфатидилинозита в ткани печени. В ряде работ показано [12], что в животных тканях фосфатидилинозит и фосфатидилсерин образуются в ходе трансферазных реакций. Обмен основаниями с фосфатидилхолином или фосфатидилэтаноламином является единственным способом образования фосфатидилсерина и фосфатидилинозита у животных [12,13].

Снижение содержания фосфатидной кислоты в митохондриях печени под влиянием яда кобры связано, с одной стороны, с действием фосфолипазы  $A_2$  яда, а с другой – с ослаблением ее синтеза. Известно, что в митохондриях, а именно в наружной мембране, синтезируется фосфатидная кислота, один из центральных метаболитов фосфолипидного обмена [14].

После введения бензонала на фоне действия яда кобры содержание фосфатидилсерина не только возвращается к норме, но и несколько превышает её (в 1,19 раза). Содержание фосфатидной кислоты после применения бензонала уменьшается. Несмотря на однотипность характера изменений содержания других фракций фосфолипидов в митохондриях печени подопытных нелеченных животных и леченных бензоналом, процент отклонения их содержания от нормы под влиянием яда кобры при лечении оказывается минимальным.

Соотношение фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин, играющее важную роль в сохранении целостности мембранных структур, при отравлении ядом кобры увеличивается в 3,2 раза. Введение бензонала в организм отравленных животных приводит к сокращению этого коэффициента до 2,08 раза.

При отравлении животных ядом кобры в митохондриях сердца содержание фосфатидилхолина и фосфатидилсерина повышается в 1,51 и 1,28 раза соответственно от уровня нормы (табл. 2). При этом содержание кардиолипина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилинозита и фосфатидной кислоты уменьшается в 1,82, 1,42, 1,28 и 1,29 раза соответственно. После введения бензонала на фоне действия яда кобры уровень фосфатидилсерина еще более

## ВЛИЯНИЕ ЯДА КОБРЫ НА ФОСФОЛИПИДЫ МИТОХОНДРИЙ

увеличивается (в 1,98 раза), а содержание фосфатидилинозита превышает норму в 1,95 раза. В отличие от указанных фосфолипидов, одновременно наблюдается усиление снижения фракции фосфатидной кислоты в (1,70 раза). При однотипном характере изменений в содержании фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и кардиолипина в митохондриях сердца нелеченных и леченных бензоном крыс, процент отклонения их содержания от нормы при лечении оказывается минимальным. Выявленные различия в характере изменений содержания фосфатидилсерина и фосфатидилинозита в митохондриях, вероятно, связаны с поражением ткани сердца и печени ядом кобры. В то же время заметных изменений в содержании фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и кардиолипина в мембранах митохондрий сердца и печени под влиянием яда кобры не отмечено.

*Таблица 2.* Изменение содержания фосфолипидов митохондрий сердца крыс при введении яда кобры и защитный эффект бензонала (в % от общего содержания фосфолипидов).

Фосфолипиды	Интактные животные	Животные, отравленные ядом кобры	
		Бензонал	Контроль
Фосфатидилхолин	36,00±0,41	41,00±0,71 <sup>**</sup>	54,30±0,37 <sup>****</sup>
Фосфатидилэтаноламин	20,30±0,32	17,20±1,72 <sup>*</sup>	11,70±0,48 <sup>****</sup>
Кардиолипин	8,72±0,27	6,82±1,23 <sup>*</sup>	1,56±0,60 <sup>****</sup>
Фосфатидилсерин	2,71±0,27	5,38±0,28 <sup>****</sup>	3,46±0,91 <sup>*</sup>
Фосфатидилинозит	3,81±0,36	7,41±0,11 <sup>****</sup>	2,75±0,57 <sup>*</sup>
Фосфатидная кислота	7,00±0,28	2,09±0,29 <sup>****</sup>	5,00±0,32 <sup>**</sup>
Неидентифицированные фосфолипиды	21,46±1,97	20,10±2,33	21,23±2,03
Фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин	1,78	2,36	4,64
Нейтральные фосфолипиды (НФЛ)	36,00±0,41	41,00±0,71 <sup>**</sup>	54,30±0,37 <sup>****</sup>
Кислые фосфолипиды (КФЛ)	33,82±1,23	32,08±2,40	22,91±2,28 <sup>**</sup>
Коэффициент НФЛ/КФЛ	1,06	1,27	2,37

При отравлении животных ядом кобры в митохондриях сердца обнаружены также изменения в соотношении фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин. Так, если в отсутствии бензонала этот коэффициент увеличивается в 2,6 раза, то в присутствии его всего лишь в 1,32 раза.

Анализируя полученные результаты, можно заключить, что при отравлении ядом кобры нарушение структуры митохондрий печени и сердца [1,2], сопровождается изменениями в соотношениях фосфолипидов, происходит снижение содержания кардиолипинов и фосфатидилэтаноламинов и повышение фосфатидилхолинов. Наблюдаемые при отравлении ядом кобры изменения фосфолипидного состава мембран митохондрий могут быть обусловлены нарушением восполнения фосфолипидного компонента мембран, разрушением фосфолипидов под влиянием фосфолипазы A<sub>2</sub> яда кобры.

Полученные результаты указывают на эффективность использования бензонала при отравлении ядом кобры. Бензонал способствует поддержанию в митохондриях печени и сердца постоянного уровня нейтральных и кислых фосфолипидов как структурно и функционально различных категорий фосфолипидов, необходимых для сохранения физико-химических свойств



функционирующих мембран. Предотвращение возможных колебаний в качественном и количественном содержании фосфолипидов в биологических системах является одним из главных условий обеспечения их нормального физиологического статуса.

Таким образом, на фоне развития морфологических и метаболических нарушения в митохондриях печени и сердца животных при отравлении их ядом кобры имеют место нарушения количественных соотношений между отдельными структурными соединениями. Описанные изменения касаются различных фосфолипидов в мембранах митохондрий, что важно для понимания механизма развития многочисленных метаболических нарушений, обусловленных дисфункциями ряда мембраносвязанных фосфолипидзависимых ферментных систем и синтеза АТР. Описанные сдвиги, характерные для отравления ядом кобры, важны для оценки результатов лечения бензоналом. Согласно полученным результатам, купирующее действие бензонала на развитие отклонений в соотношениях фосфолипидов в мембранах митохондрий органов животных чётко выражено. Применение бензонала в определенной степени поддерживает уровень нейтральных и кислых фосфолипидов в пределах нормы и препятствует развитию заметных нарушений в их соотношениях.

#### ЛИТЕРАТУРА.

1. Орлов Б.Н., Вальцева И.А. (1977) Яды змей, Медицина, Ташкент.
2. Джамалова А.Т., Медъров Ш.Р., Позилова Р.А., Аламурастов Ш.И., Алматов К.Т. (1998) Вестник ТашГУ им. М.Улугбека, №2, 10-14.
3. Джамалова А.Т., Ширинова И.А., Алматов Ш.К., Алматов К.Т. (2000) Межд. Конф. "Физиолого-химическая биология на рубеже веков", Вестник КазГУ, Алматы, 3 (11), с. 44.
4. Джамалова А.Т., Ширинова И.А., Аламурастов Ш.И., Ахмеров Р.Н., Алматов К.Т., Асанова К. (2001) Известия ВУЗов. Химико-биологические науки. Ташкент. (1), 33-38.
5. Кондрашова М.Н. (ред.) (1973) Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. Наука, М.
6. Ахмеров Р.Н. (1979) Узб. биол. журнал, (5) 71-72.
7. Lowry O.H., Rosebrough N. L., Farr N.J., Randall R.L. (1951) J. Biol. Chem., **193**, 265-275.
8. Bligh E.G., Dyer W.J. (1959) Can. J. Biochem. Physiol., **37**(8), 911-917.
9. Vaskovsky V.E., Kosterskiy E.G., Vasendin I.M. (1975) J. Chromatogr., **114**, 129-141.
10. Бергельсон Л.Д., Дятловицкая Э.В., Молотковский Ю.Г., Батраков С.Г., Барсуков Л.И., Проказова Н.В. (1981) Препаративная биохимия липидов. Наука, М.
11. Алматов К.Т. (1990) Механизм развития повреждений мембран митохондрий и роль липолитической системы. Дисс.док.наук, Ташкент.
12. Баранска И. (1982) Биосинтез и транспорт фосфатидилсерина в клетке. Липиды биологических мембран. Ташкент: Фан, с. 57-62.
13. Мецлер Д. (1980) Биохимия. Мир. М.
14. Daal N.W., Breme I. (1970) Biochim. Biophys. Acta, **210**(1), 92-104.

Поступила: 14. 01. 2002

THE EFFECT OF ASIAN COBRA VENOM ON THE CONTENT OF RAT HEART AND LIVER MITOCHONDRIAL PHOSPHOLIPIDS AND THE PROTECTIVE EFFECT OF BENZONAL

*I. Shirinova, Sh.Ah. Nurdinov, H.P. Klemesheva, K.T. Almatov*

M. Ulugbek National University of Uzbekistan,  
Vuz gorodok, Tashkent, 700174, Uzbekistan  
tel.: 118-85-44; tel/fax: 144-77-28; e-mail: Kalmatov@bk.ru

Administration of a cobra venom to rats resulted in decrease of heart and liver mitochondrial cardiolipins (1.88 and 1.82 times), phosphatidylethanolamines (1.56 and 1.42 times) and phosphatidic acid (1.14 and 1.29 times), whereas the content of phosphatidylcholins increased by 1.42 and 1.51-fold, respectively. The content of phosphatidylinositol increased by 3.09 times in liver mitochondria and decreased by 1.28 times in heart mitochondria. Administration of benzonol not only normalized liver mitochondrial phosphatidylserine content impaired after the venom administration but even exceeded it. Benzonol also minimized changes in mitochondrial phospholipid induced by the cobra venom, and also reduced liver and heart phosphatidic acid content by 1.36 and 1.7 times.

**Key words:** rats, liver, heart, mitochondria, phospholipids, snake venom, Central Asian cobra *Naja naja oxiana* Echwald, benzonol.