

УДК 612.014.46+546.171.5

Ш.К. БАХТИЯРОВА

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ И ХРАНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ ТКАНЕЙ НА СОДЕРЖАНИЕ В НИХ 1,1-ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА

(Институт физиологии человека и животных ЦБИ КН МОН РК, Алматы)

Экспериментальная работа выполнена на белых крысах, подвергнутых воздействию 1,1-диметилгидразина в условиях *in vivo*. Исследованы способы консервации образцов животных тканей для последующего определения в них уровня 1,1-диметилгидразина.

Развитие аэрокосмической деятельности и проведение запусков с космодрома Байконур в Казахстане сопряжено с возникновением при этом экологических проблем, связанных с использованием в качестве ракетного топлива несимметричного диметилгидразина (1,1-диметилгидразина, 1,1-ДМГ). Горючее на основе гидразинов применяется в мощных двигателях всех ступеней гигантских ракет-носителей. Попадание 1,1-ДМГ в природные объекты имеет место как непосредственно на космодроме, так и в местах падения отработанных ступеней ракет-носителей. Районы падения отделяющихся частей ракет-носителей, к примеру, в пределах Карагандинской области занимают около 3,5 млн га [1]. Аварии двух «Протонов» показали, что многие населенные пункты подвержены риску загрязнения компонентами ракетного топлива, особо опасными из которых являются 1,1-ДМГ с торговым названием «гептил» и его производные, такие как диметиламин, тетраметилтетразин, нитрозодиметиламин, метилендиметилгидразин, формальдегид, метил-1-Н-1,2,4-триазол и др.

Возможны разнообразные пути попадания 1,1-ДМГ и его производных в организм – через легкие (ингаляционным путем), через пищеварительный тракт (перорально), через кожу, а также длительность воздействия – от однократного (мгновенного) до хронического. В литературе приводятся данные о влиянии 1,1-ДМГ и его производных на организм экспериментальных животных [2-7], однако в полевых условиях невозможно точное определение содержания 1,1-ДМГ и его производных в тканях животных, обитающих на этих территориях. В этих условиях необходимым представляется разработка адекватных способов транспортировки образцов тканей с их

предварительной консервацией, которая бы не меняла содержание исследуемых токсикантов.

Учитывая вышесказанное, в рамках проводимого исследования были отработаны способы обработки и консервации образцов тканей животных для последующего определения содержания 1,1-диметилгидразина.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с задачами исследования проведены опыты на 43 здоровых белых лабораторных крысах обоего пола массой 150-300 г.

При отработке методики определения 1,1-ДМГ в тканях, крысам его вводили внутрибрюшинно из расчета  $1/10 LD_{50}$ , что составляло в среднем 1,25 мг/100 г массы тела животного [8]. Через 2 часа после этого животных брали на опыт.

Для взятия у животных образцов печени, мозга, легких, кишок, почек и брыжеечных лимфатических узлов животных предварительно наркотизировали путем внутримышечной инъекции нембутала (4 мг/100 г). Далее у крыс отпрепаровывали и канюлировали общую сонную артерию и наружную яремную вену для последующего промывания сосудистой системы животных охлажденным физиологическим раствором для удаления из тканей остатков крови. После этого по белой линии живота вскрывали брюшную полость, отпрепаровывали и вырезали органы, которые помещали в охлажденный физиологический раствор, после чего на холоду их очищали, удаляя соединительную ткань.

Отбирали по 200 мг тканей, заливали 2 мл охлажденной среды для гомогенизации, pH 7.4, или 0,1 М раствором HCl, или 96% спиртом – для отработки методики консервации тканей. Далее с помощью диспергатора Ultra-Turrax T8 гомо-

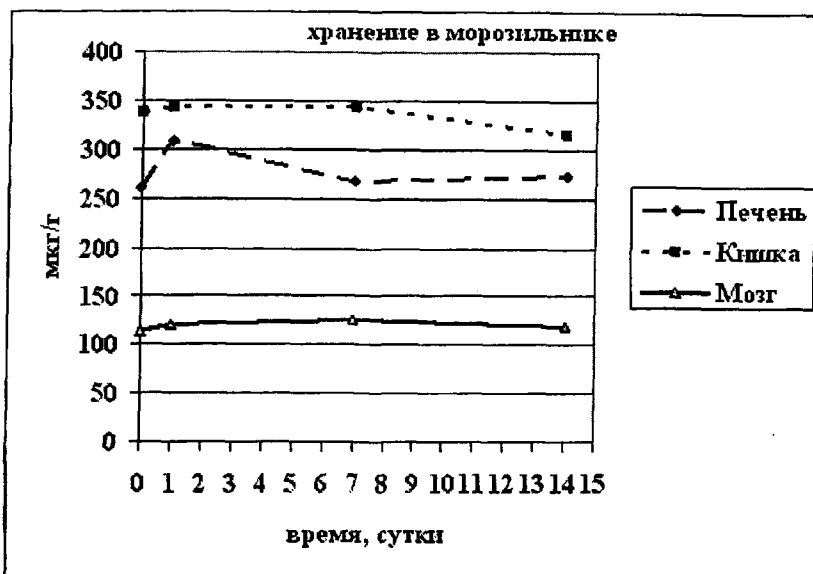


Рис. 1. Влияние хранения кусочков тканей в 96% растворе спирта в морозильнике в течение 1 и 2-х недель на содержание 1,1-ДМГ

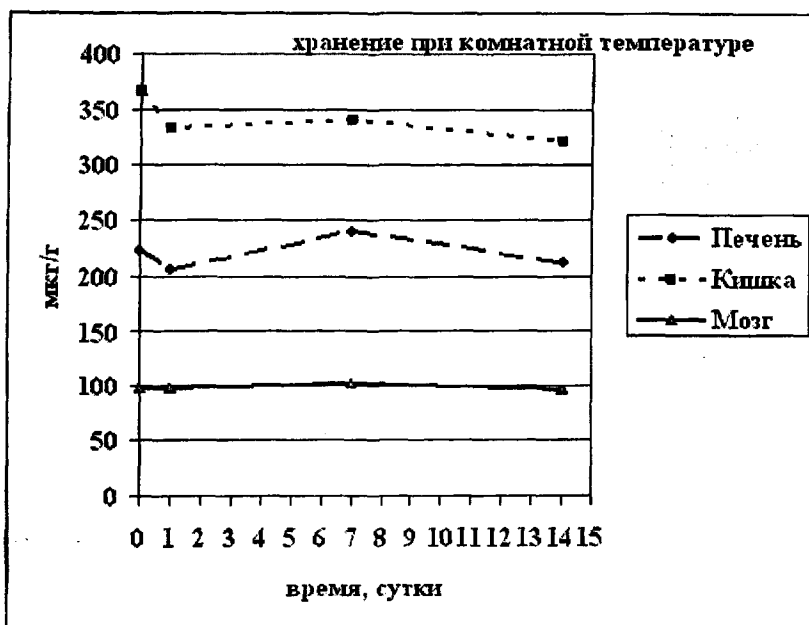


Рис. 2. Влияние хранения кусочков тканей в 96% растворе спирта при комнатной температуре в течение 1 и 2-х недель на содержание 1,1-ДМГ

генизировали образцы тканей. Полученные гомогенаты депротеинизировали и центрифугировали при 5000 об/мин для осаждения частичек тканей.

В последующем проводили спектрофотометрическое определение содержания 1,1-ДМГ в образцах тканей по методике [8].

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel и изменения параметров с уче-

том непарного критерия Фишера – Стьюдента считали достоверными при  $p \leq 0.05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Отработка способов консервации тканей.** Проведен сравнительный анализ 3 способов консервации тканей с помощью 96% спирта. Для этого у крыс вырезали кусочки тканей – пе-

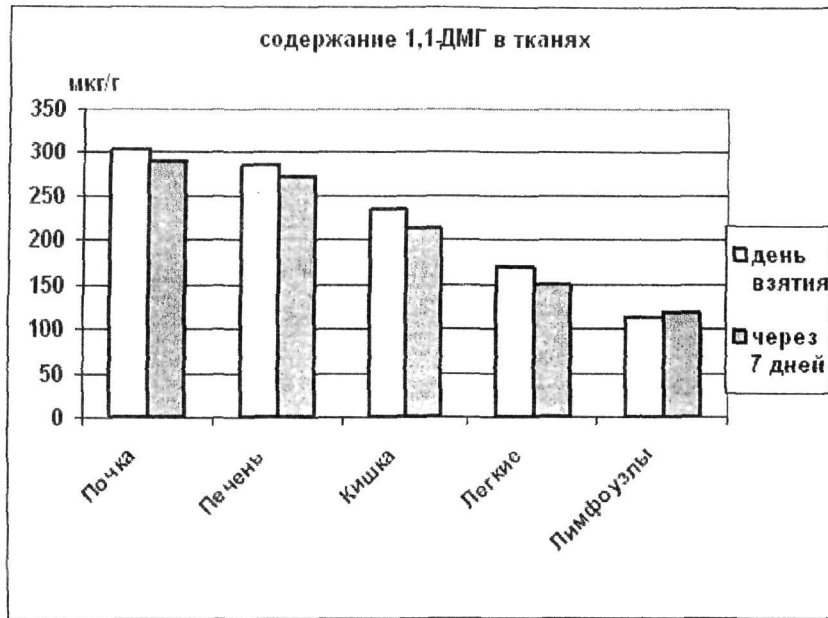


Рис. 3. Влияние хранения кусочков тканей в 0,1 М растворе HCl при комнатной температуре в течение 1 недели на содержание 1,1-ДМГ

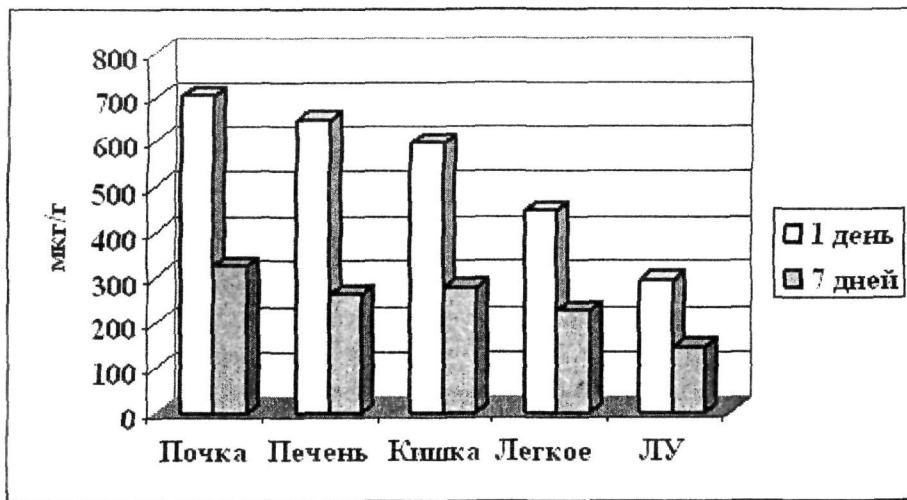


Рис. 4. Содержание 1,1-ДМГ в образцах тканей через 1 и 7 дней после окончания недельной затравки крыс

чени, кишки, мозги, легких, почек и лимфоузлов, которые очищали от соединительной ткани, делили на 3 части и взвешивали. Одну часть использовали для немедленного определения содержания 1,1-ДМГ. Две другие массой по 200 мг помещали в 2 мл 96% этилового спирта в герметически закрываемые емкости. Одни образцы тканей в спирте помещали в морозильник, а вторые – держали при комнатной температуре. Время выдержки – сутки, 2 дня, неделя.

После времени выдержки, кусочки тканей брали на анализ. Учитывая, что выдержанные в спирту органы, особенно кишка и легкие, стано-

вились довольно твердыми и не поддавались непосредственной гомогенизации в диспергаторе, их размельчали вначале ножницами, а затем в фарфоровой ступке и с помощью диспергатора Ultra-Turrax T8 гомогенизировали образцы тканей. Полученные гомогенаты центрифугировали при 5000 об/мин для осаждения частичек тканей.

Предварительные данные показали, что хранение биологических тканей в течение 1 и 2-х недель в 96%-ном растворе спирта, как в условиях морозильника, так и при комнатной температуре практически не сказывается на последую-

щем определении содержания 1,1-ДМГ, что можно видеть на рисунках 1 и 2.

В последующем нами был модифицирован способ длительной консервации образцов тканей животных для последующего анализа содержания несимметричного диметилгидразина и его производных, для упрощения гомогенизации тканей животных после их длительной консервации. Учитывая возможность хранения 1,1-ДМГ в 0,1 М соляной кислоте, а также подавление роста бактерий в сильно кислой среде, были выполнены дополнительные опыты по хранению образцов тканей в 0,1 М растворе HCl.

Полученные результаты показывают, что при хранении биологических тканей в течение недели в 0,1 М растворе HCl при комнатной температуре количество 1,1-ДМГ в тканях при последующем определении через неделю практически не менялось (рисунок 3).

**Определение содержания 1,1-ДМГ в образцах тканей в различные сроки после затравки.** Следующим этапом наших исследований было выяснение вопроса об аккумуляции 1,1-ДМГ в тканях крыс в различные сроки после проведения однократной или недельной затравки.

Полученные данные показывают, что на следующий день после завершения недельной затравки животных 1,1-ДМГ, его количество, аккумулируемое в исследованных тканях, было выше, чем при однократном внутрибрюшинном введении. При этом наибольшие концентрации 1,1-ДМГ определялись в почках, затем в печени, кишке, легких и наименьшее количество было в брыжеечных лимфоузах (рисунок 4).

Через 7 дней после недельной затравки животных 1,1-ДМГ, его количество, аккумулируемое в исследованных тканях, было выше, чем при однократном внутрибрюшинном введении, но ниже, чем при определении на следующий день после прекращения затравки (рисунок 4).

Эти данные свидетельствуют о возможности самоочищения организма от этого токсиканта путем, к примеру, его выведения почками, поскольку наибольшие концентрации 1,1-ДМГ определялись в почках. При этом по количеству накопленного 1,1-ДМГ остальные органы располагались следующим образом: печень, кишка, легкие и брыжеечные лимфоузлы.

Таким образом полученные данные позволяют рекомендовать для длительного хранения образцов тканей животных использовать 0,1 М

раствор HCl (на 200 мг образца 2 мл 0,1 М HCl). Хранение можно осуществлять при комнатной температуре. Эти условия на отражаются на концентрации 1,1-ДМГ в тканях при последующем определении токсиканта.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гранкин Б., Хамзин Б., Жуковский В. и др. «Экологический курьер». – ТУ «Центрказнедра» облуправление охраны окружающей среды. Караганда, 2001. 12 с.
2. Башарин В.А., Куценко С.А., Глушков С.И. Влияние острого отравления 1,1-диметилгидразином на тиолсульфидный статус тканей различных органов // Актуальные проблемы клинической токсикологии: материалы Всерамской научно-практической конференции, посвященной 200-летию Российской Военно-медицинской Академии. – СПб. 1999а. – С.160;
3. Башарин В.А., Куценко С.А., Глушков С.И. Влияние острого отравления 1,1 диметилгидразином на активность ферментов антиперекисной защиты // Актуальные проблемы клинической токсикологии: материалы Всерамской научно-практической конференции, посвященной 200-летию Российской Военно-медицинской Академии. – СПб. 1999б. – С.208-209;
4. Башарин В.А. Экспериментальная оценка состояния системы глутатиона и перекисного окисления липидов в различных органах и тканях при острых отравлениях 1,1-диметилгидразином и фенилгидразином – Автореф. дис. канд. мед. наук – СПб. 2001. – 20 с.
5. Кольбай И. С., Сейткулова Л. М., Джусупбекова Б. А. и др. Сравнительный анализ влияния 1,1-диметилнитрозамина – производного «гептила» и ионов кадмия на активность протеаз ряда тканей // Международн. конф. по аналит. химии, посвящ. 100-летию со дня рожд. чл.-корр. НАН РК О.А. Сонгиной: мат.-лы. Алматы, 2001. С.77-80.
6. Джусупбекова Б.А., Кольбай И.С., Алимбаева Ж.М. Уровень общей протеолитической активности различных тканей крыс при действии гептила, ионов кадмия и биосластилина in vitro // Известия МОН РК, НАН РК. Сер. биол. и мед. 2003. № 3. С. 68-73.
7. Мурзахметова М.К., Мирошина Т.Н., Турмухамбетова В.К. и др. Исследование состояния клеточных мембран при действии на организм несимметричного диметилгидразина // Вестник КазНУ. Серия химическая. 2003, № 3 (31). С.245-249
8. Несимметричный диметилгидразин. Спектрофотометрическое определение массовой концентрации в пробах биологического материала (мышечная ткань). Методика выполнения измерений / МУК 4.1.002-97. Москва, 1997. – 16 с.

#### Резюме

Бұл зерттеулер нәтижесі бойынша жануарлар ұпаларының ұлгілерін бөлме температурасында 01М HCl ерітіндісінде консервациялауға болады. Бұл жағдайда 1,1 ДМГ концентрациясы өзгермейді.

#### Summary

In experiments on rats it was shown that it is possible to keep the tissue samples at room temperature in 0,1M HCl solution, and these condition don't reflect upon their 1.1DMG concentration.