

М.К. МУРЗАХМЕТОВА

ВЛИЯНИЕ ИНТОКСИКАЦИИ 1,1-ДИМЕТИЛГИДРАЗИНОМ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

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

Исследовали влияние однократной и 2-недельной интоксикации 1,1-диметилгидразином (1,1-ДМГ) на резистентность мембран эритроцитов и микросом внутренних органов крыс. Показано, что 1,1-ДМГ снижает перекисную резистентность эритроцитов и повышает уровень перекисного окисления липидов микросом мозга, сердца и печени. Установлено, что наибольший повреждающий эффект 1,1-диметилгидразина проявляется при остром однократном отравлении по сравнению с хронической интоксикацией.

Среди большого разнообразия неблагоприятных факторов среды, влияющих на организм, особо следует выделить 1,1-диметилгидразин (1,1-ДМГ), являющийся одним из основных компонентов азотоводородного ракетного топлива. Развитие авиакосмической промышленности, и, особенно, аварии, имеющие место при запусках

космических аппаратов, приводят к выбросам ракетного топлива в окружающую среду и накоплению в среде высокотоксичных соединений, что является серьезной проблемой и представляет угрозу для здоровья населения. Это особо актуально для районов, прилегающих к космодрому «Байконур» [1-2]. 1,1-ДМГ – высокотоксич-

ное соединение, вызывающее острые и хронические формы интоксикации с преимущественным поражением центральной нервной системы, печени, крови, а также других органов человека [3-5]. 1,1-ДМГ обладает неограниченной растворимостью в воде, высокой летучестью, способностью к миграции и накоплению во всех средах, включая продукты растительного и животного происхождения [6]. В организм гидразин и его производные могут поступать различными путями, их относительная токсичность не зависит от способов поступления [7]. При этом метаболизм гидразина в организме животных и человека до конца не изучен, поэтому данная проблема остается открытой [8].

В связи с вышеизложенным целью нашей работы явилось исследование состояния мембран эритроцитов и микросом внутренних органов крыс в условиях однократной и 2-недельной интоксикации 1,1-диметилгидразином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были проведены на 50 белых лабораторных крысах-самцах массой 220-250 г. Животным 1,1-ДМГ вводили внутривентриально 1 раз или перорально в течение 2-х недель из расчета 1.25 мг/100 г массы тела.

Кровь центрифугировали 10 минут при 1000 g. Плазму и лейкоциты удаляли, а эритроциты дважды промывали средой инкубации (СИ), содержащей 150 мМ NaCl, 5 мМ Na₂HPO₄ (pH-7,4). Полученную суспензию эритроцитов использовали для проведения исследований.

Перекисный гемолиз эритроцитов (ПГЭ) определяли по методу [9] в нашей модификации с использованием 1 М раствора H₂O₂.

Мембраны внутренних органов (мозг, сердце, легкие, печень) получали по методу [10]. ПОЛ в мембранах индуцировали системой Fe²⁺ (0.02 мМ) + аскорбат (0.5 мМ), инкубируя исследуемые образцы при 37°C в среде, содержащей 100 мМ NaCl, 2.5 мМ имидазола (pH 7.1) и через определенные интервалы времени (0, 20, 60 мин) отбирали пробы. Накопление продуктов ПОЛ (малоновый диальдегид, МДА) в субклеточных фракциях различных органов крыс оценивали по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) и определяли по интенсивности развивающейся окраски по методу [11]. Расчет содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), проводили с учетом коэффициента молярной экстинкции МДА, равного 1,56×10⁵ М⁻¹·см.

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel. С учетом критерия Фишера-Стьюдента зарегистрированные изменения показателей считали достоверными при p≤0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования перекисной резистентности эритроцитов при однократном внутривентриальном введении и 2-х недельном пероральном поступлении в организм 1,1-диметилгидразина представлены на рисунке 1. Из рисунка видно, что с увеличением концентрации H₂O₂ повы-

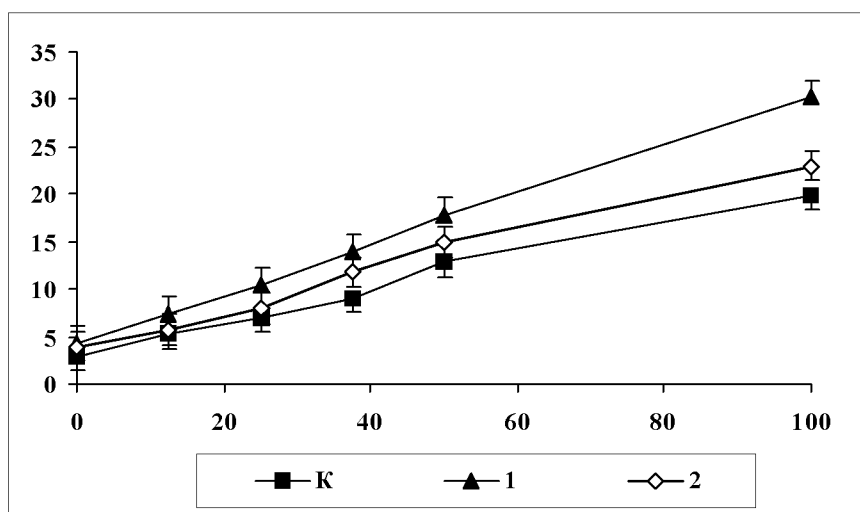


Рис. 1. Влияние интоксикации крыс 1,1-диметилгидразином на перекисную резистентность эритроцитов.

По оси ординат: уровень гемолиза, %. По оси абсцисс: концентрация H₂O₂ в мМ.

К — контроль, 1 — 1,1-ДМГ (однократный), 2 — 1,1-ДМГ (2 недели)

шается степень гемолиза эритроцитов контрольных и опытных животных. При этом уровень гемолиза эритроцитов опытных крыс выше контрольных при всех концентрациях H_2O_2 .

Сравнение перекисного гемолиза эритроцитов крови крыс после острого и хронического отравления 1,1-ДМГ выявило, что однократное действие токсиканта оказывает больший эффект и увеличивает выход гемоглобина, хотя действие 2-хнедельного перорального введения 1,1-ДМГ также повышает уровень перекисного гемолиза эритроцитов по отношению к контролю. Следовательно, 1,1-ДМГ снижает резистентность эритроцитов и нарушает целостность мембран эритро-

цитов. Острое отравление 1,1- диметилгидразином в большей степени повреждает мембрану эритроцитов и вызывает повышение уровня перекисного гемолиза.

Для выяснения возможного участия процессов липопероксидации в повреждении клеточных мембран при действии 1,1-ДМГ были проведены исследования по изучению продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях различных органов крыс при остром и хроническом отравлении 1,1-диметилгидразином.

На рисунках 2-4 приведены данные по определению ТБК-активных продуктов ПОЛ в микросомах, выделенных из тканей мозга, сердца и

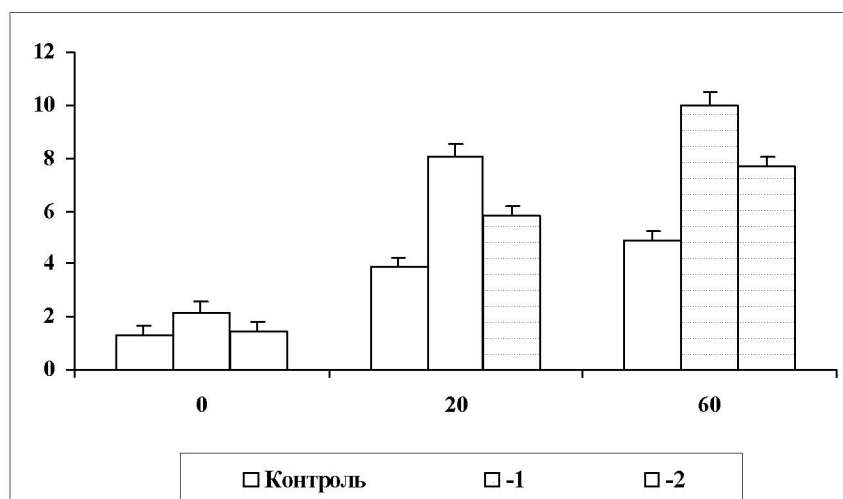


Рис. 2. Влияние интоксикации крыс 1,1-ДМГ на накопление малонового диальдегида в микросомах мозга крыс. По оси абсцисс: время индукции ПОЛ, мин; по оси ординат: концентрация МДА, нмоль/мг белка. 1 – 1,1-ДМГ (однократный), 2 – 1,1-ДМГ (2 недели)

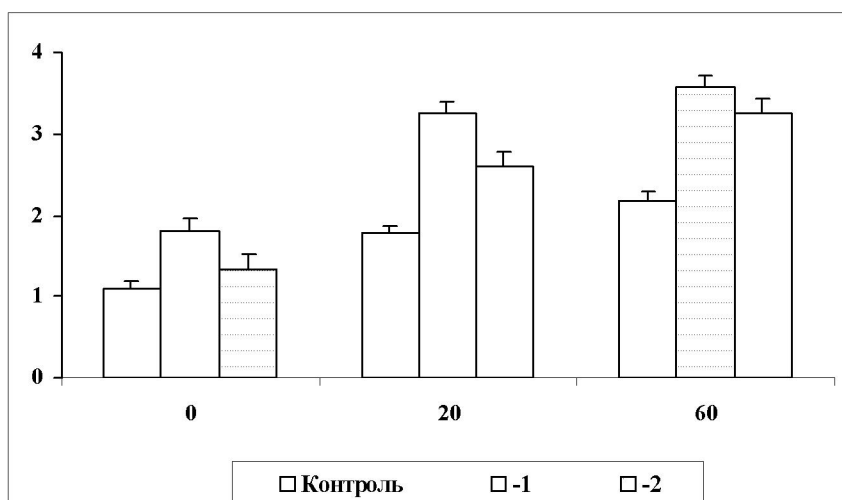


Рис. 3. Влияние интоксикации крыс 1,1-ДМГ на содержание ТБК-активных продуктов в микросомах сердца. По оси абсцисс: время индукции ПОЛ, мин; по оси ординат: концентрация МДА, нмоль/мг белка. 1 – 1,1-ДМГ (однократный), 2 – 1,1-ДМГ (2 недели)

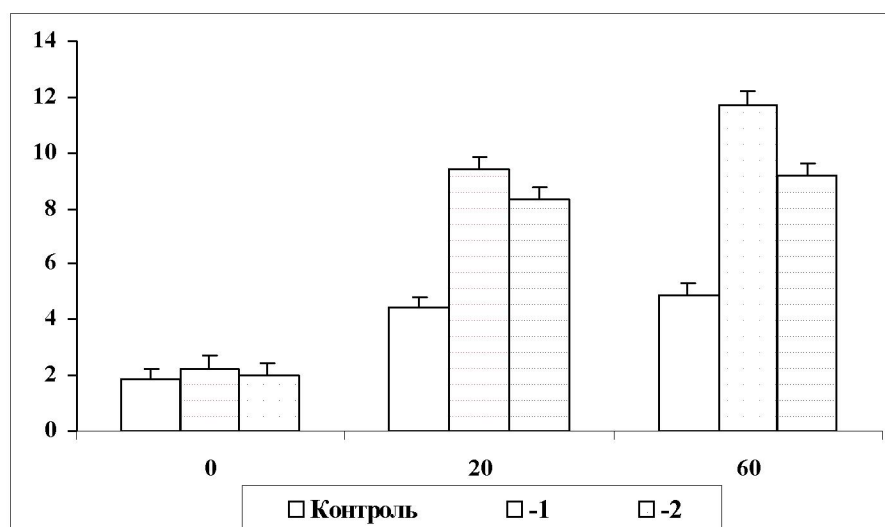


Рис. 4. Накопление малонового диальдегида в микросомах печени крыс при интоксикации 1,1-ДМГ. По оси абсцисс: время индукции ПОЛ, мин; по оси ординат: концентрация МДА, нмоль/мг белка. 1 – 1,1-ДМГ (однократный), 2 – 1,1-ДМГ (2 недели)

печени контрольных и опытных крыс. Из рисунков видно, что и острая и хроническая интоксикация 1,1-диметилгидразином приводит к увеличению перекисных продуктов в мембранах всех исследованных органов. Однако наибольшее содержание продуктов перекисной окислительной реакции наблюдается в сердце и мозге (увеличение соответственно на 65 и 64% при острой и на 22 и 12% при хронической интоксикации), более низкие значения исследованного параметра отмечены в печени (при острой на 22 и при хронической интоксикации на 10%).

Следует отметить, что наиболее существенное увеличение продуктов ПОЛ во всех исследованных органах наблюдается при индукции перекисного окисления липидов системой Fe^{2+} +аскорбат. При этом резкий прирост ТБК-активных продуктов после острого отравления по сравнению с контролем при 20-минутной индукции отмечается уже в микросомах печени и мозга (увеличение соответственно на 111 и 107%), хотя усиление процессов перекисной окислительной реакции наблюдалось и в сердечной ткани, но в меньшей степени (на 83%). Дальнейшая индукция ПОЛ до 60 мин приводит к увеличению прироста МДА в микросомах печени, мозга и сердца (на 163, 105 и 64% соответственно) по сравнению с микросомами контрольных животных.

При хронической интоксикации крыс в течение 2 недель повреждающий эффект 1,1-ДМГ проявляется в меньшей степени по сравнению с

однократным острым отравлением. Например, индукция в течение 20 мин приводит к увеличению перекисных продуктов в микросомах печени, мозга и сердца на 88, 50 и 46% соответственно, а при 60-минутной индукции ПОЛ содержание ТБК-активных продуктов повышается на 88, 58 и 49% по сравнению с содержанием МДА контрольных животных.

Из представленных данных видно, что как при остром, так и при хроническом действии 1,1-диметилгидразин снижает перекисную резистентность эритроцитов и увеличивает содержание ТБК-активных продуктов в микросомах всех исследованных органов. При этом наибольший повреждающий эффект 1,1-ДМГ проявляется при остром однократном отравлении по сравнению с хронической интоксикацией.

Таким образом, 1,1-ДМГ, действуя однократно или в течение 2 недель, повышает уровень перекисного окисления липидов микросом мозга, сердца, и печени, что, несомненно связано с увеличением концентрации свободных радикалов в клеточных мембранах. Установлено, что при действии на организм токсиканта, накопление ТБК-активных продуктов в печени значительно больше по сравнению с другими исследованными органами. Можно полагать, что печень в первую очередь подвергается стрессовым воздействиям. Необходимо отметить, что сердечная мышца менее подвержена повреждающему действию вредных соединений. Различия в интен-

сивности перекисных процессов в разных органах вероятно связаны с разным содержанием в этих тканях антиоксидантных ферментов. Известно, что образование активных форм кислорода, являющихся более сильными окислителями, чем молекулярный кислород, является одним из важнейших условий протекания процессов ПОЛ [12]. Определенную роль в изменениях резистентности мембран эритроцитов играет и влияние токсиканта на перекисное окисление липидов мембран эритроцитов, о чем свидетельствует и активация перекисного гемолиза эритроцитов. Эти данные согласуются с данными других авторов, доказывающих, что 1,1-ДМГ является мощным мембранотропным ядом и нарушает нормальную структуру клеточных мембран [13]. Следовательно, можно заключить, что развитие перекисных процессов является возможным механизмом повреждения мембран эритроцитов при действии токсичных соединений и причиной гемолиза и выхода гемоглобина из эритроцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акылбаев Ж.К., Бактыбеков К.С., Быйстро В.К., Рамазанова Р.А., Чунаева В.Д. Несимметричный диметилгидразин и продукты его превращения как фактор загрязнения окружающей среды // Вестник КарГУ. 2001. № 1. С.54-56.
2. Зимовина Е.П. Влияние деятельности космодрома «Байконур» на демографические процессы в Кызылординской области // Вестник КарГУ. 2001. № 1. С.89-93.
3. Morris J., Densem J.W., Wald N.J., Doll R. Occupational exposure to hydrazine and subsequent risk of cancer. *Occup Environ Med.* 1995. Vol.52.N 1. P. 43-45.
4. Choudhary G., Hansen H. Human health perspective on environmental exposure to hydrazines: a review. *Chemosphere.* 1998 Vol.37. N 5. P. 801-843.
5. Morgenstern H., Ritz B. Effects of radiation and chemical exposures on cancer mortality among Rocketdyne workers: a review of three cohort studies // *Occup Med.* 2001. V.16. N 2. P 219-37.
6. Жидкие ракетные топлива. Справочник. М.: Институт биофизики, 1991, 63 с.

7. Белов А.А. К вопросу о токсичности и опасности гидразина и его производных (обзор) // *Промышленная токсикология.* 1999. №5. С. 3-15.

8. *Гидразин.* Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Женева: Совместное издание Программы ООН и Всемирной организации здравоохранения, 1991. 84 с.

9. Покровский А.А., Абрарова А.А. К вопросу перекисной резистентности эритроцитов // *Вопр. питания.* 1964. №16. С.44-49.

10. Конь И.Я., Горгошидзе Л.Ш., Васильева О.Н., Кулакова С.Н. Витамин А и перекисное окисление липидов: влияние недостаточности ретинола // *Биохимия.* 1986. Т.51. №1. С. 70-75.

11. Ohkawa H.O., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Anal.Biochem.*1979. Vol.95. N 2. P.351-358.

12. Girotti, A. W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems // *J. Lipid Res.*1998. Vol.39. P.1529-1542.

13. Авакян А.Х. Новые молекулярные критерии оценки токсического действия производных гидразина. Активные формы кислорода как ключевые агенты в механизме токсичности // *Фармакология и токсикология.* 1990. Т.53. N1. С.70-73.

Резюме

1,1-диметилгидразинмен (1,1-ДМГ) бір мәртелік және 2-апта уланудың эритроциттер мембраналарының төзімділігіне және егеуқұйрықтардың ішкі мүшелерінің микросомаларына әсері зерттелді. 1,1-ДМГ эритроциттердің асқын тотықтық төзімділігін төмендетіп және ми, жүрек, бауыр микросомаларының липидтерінің асқын тотығу деңгейін жоғарылататындығы көрсетілді. Көп уақытқа созылған уланумен салыстырғанда 1,1-диметилгидразинмен бір рет өткір улану әсері ең үлкен күшті зақымдаушы болып анықталды.

Summary

Investigated influence of a unitary and 2-week intoxication 1,1-dimethylhydrazine (1,1-DMH) on the state of erythrocyte membranes and a microsomes of internal organs of rats. It is shown, that 1,1-DMH reduces peroxic resistance of erythrocyte and raised a level of lipid peroxidation of a brain, heart and liver microsomes. It was established that the greatest damaging effect of 1,1- dimethylhydrazine at a acute poisoning in comparison with a chronic intoxication.