

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ РАКЕТНОГО ТОПЛИВА НА ПЕРИФЕРИЧЕСКУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОК КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Игорь Алексеевич ЛАВРИНЕНКО¹, Светлана Есимбековна БАТЫРБЕКОВА²,
Валентина Александровна ЛАВРИНЕНКО³, Алина Витальевна БАБИНА³

¹НИИ биохимии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Центр физико-химических методов анализа
050012, г. Алматы, ул. Карасай батыра, 95а

³ГОУ ВПО Новосибирский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Показано, что 1,1-диметилгидразин оказывает токсическое влияние на периферическую нервную систему лабораторных животных и вызывает ряд изменений основных показателей красной крови: уменьшение количества и увеличение среднего объема и гетерогенности популяции эритроцитов, уменьшение осмотической резистентности и скорости оседания эритроцитов.

Ключевые слова: ракетное топливо 1,1-ДМГ, токсичность, эритроциты, потенциал действия.

В настоящее время Россией, США, Китаем, Францией и другими странами осуществляются запуски ракет типа «Протон», «Циклон», «Чанчжен», «Космос», «Ariane», «Titan», двигатели которых работают на жидком топливе — 1,1-диметилгидразине (1,1-ДМГ, гептил) и окислителе, тетраоксиде азота. Отделяющиеся ступени ракет-носителей содержат эти токсичные компоненты ракетного топлива (КРТ). Наибольшую опасность для растительного и животного мира представляет падение первых ступеней ракет-носителей, в топливных магистралях которых могут находиться тонны топлива и окислителя. 1,1-диметилгидразин относится к соединениям первого класса токсичности и обладает общетоксическим и местнораздражающим действием, а также проявляет канцерогенные свойства [1–4]. Показано, например, что гептил вызывает многочисленные заболевания у детей («желтые дети») и взрослых, проживающих в районах падения первых ступеней ракетных комплексов [5–8, 10, 11]. Установлено, что в развитии «гидразиновых» поражений печени значительную роль играют стимуляция перекисного окисления липидов, подавление антиоксидантной защиты, угнетение синтеза белков [1]. Токсическое действие гептила опосредуется, очевидно, метаболизмом этого соединения в печени человека и животных, приводящим к образованию алкилирующих соединений и радикалов, активно воздействующих на все белки и мембраны их клеток [8–10]. Однако до сих пор детальный механизм

действия гептила на клетки эукариот изучен недостаточно [11].

В связи с этим мы сделали попытку изучить влияние 1,1-ДМГ на принципиально важные мишени, на которые в первую очередь воздействует гептил, — нервную систему и систему крови у лабораторных животных.

Материал и методы

Выбор животных для экспериментов обусловлен необходимостью использования тех тканей, на которые в первую очередь действует гептил [11]. Такими тканями являются нервная система и система крови. Работа по оценке токсического действия компонентов ракетного топлива на ткани нервной системы выполнялась на нервно-мышечных препаратах (n. ischiadicus — m. gastrocnemius) лягушек, исследовали некоторые электрофизиологические характеристики составного потенциала действия (ПД) седалищного нерва. Эксперименты проводили с помощью исследовательского комплекса «BioPack Lab.» (США). Во всех экспериментах использовали максимальную силу раздражения, равную 0,5 вольтам. Регистрацию составного потенциала осуществляли в течение 5 минут с момента аппликации препарата, через 30, 60, 120, 180 и 300 секунд. В качестве контроля использовали раствор Рингера для холоднокровных животных. Для оценки токсичности использовали величины амплитуды и скорости проведения сигнала возбуждения. Работа выполнена на 20 нервно-мышечных

Лавриненко И.А. — к.б.н., ведущ.н.с. лаборатории генной инженерии, e-mail: igor@academ.org

Батырбекова С.Е. — д.х.н., зав. лабораторией экологии

Лавриненко В.А. — проф. кафедры физиологии, e-mail: igor@academ.org

Бабина А.В. — аспирант кафедры физиологии, e-mail: phisiol@nsu.fen.ru

препаратах. Обработка полученных результатов велась в пакете программ «Биорас BSL Pro».

Исследование воздействия гептила на компоненты системы крови выполняли на крысах линии Wistar (вес 180–200 г), которым дважды в день в течение 3 дней вводили внутривенно 0,5 мл раствора гептила различной концентрации — 0,01 %, 0,02 %, 0,5 %, 1 %. После окончания эксперимента проводили анализ крови с помощью гематологического анализатора «HEMOLUX 19» (Миндрей, КНР). Определение скорости оседания эритроцитов, осмотической резистентности эритроцитов, времени свертывания крови проводили по стандартным методикам [12]. Во всех выполненных экспериментах руководствовались правилами проведения работ на животных (приложения 1–3 к приказу Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12.08.1977).

Результаты экспериментов были обработаны с помощью программы «Statistica» с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

1. Определение составного потенциала действия седалищного нерва лягушки

Седалищный нерв лягушки содержит двигательные волокна (аксоны мотонейронов), чувствительные (аксоны чувствительных клеток) и симпатические постганглионарные волокна (аксоны нейронов симпатических ганглиев). Двигательные и наиболее толстые чувствительные волокна этого нерва миелинизированы, симпатические не имеют миелиновой оболочки и покрыты одним слоем шванновских клеток. Волокна, входящие в состав седалищного нерва, различаются по электровозбудимости, скорости развития потенциала действия и скорости проведения.

Поскольку в камере для регистрации ПД электроды контактируют с целым седалищным нервом, то при стимуляции нерва на некотором расстоянии от места отведения электрод сначала регистрирует ПД наиболее быстро проводящих волокон, а после этого — группы потенциалов других, более медленно проводящих, нервных волокон. Следовательно, ПД такого нерва состоит из ответов целого спектра групп волокон с разными скоростями проведения.

Регистрируемый внеклеточный электрический ответ седалищного нерва (составной ПД) является алгебраической суммой ПД отдельных его волокон. Для составного ПД характерно полное возбуждение каждой точки нервного волокна, так что амплитуда ПД везде одна и та же. Протекающие по принципу «все или ничего» процессы возбуждения в отдельных участках мембраны сопряжены друг с другом посредством электротонического распространения раздражающих токов вдоль волокна. Регистрируется двухфазный ПД, так как общее колебание потенциала между двумя электродами имеет положительный и отрицательный

компоненты. При внеклеточном отведении биопотенциалов от нервного ствола регистрируют не изменение потенциала на мембране, а падение напряжения на внеклеточном межэлектродном участке, вызванное протеканием локальных токов вдоль наружной поверхности аксонов от покоящегося участка к активному участку. Поэтому чем больше будет возбуждено волокон, тем больше сила локального ответа, меньше шунт и, следовательно, больше разность потенциалов, которую регистрируют внеклеточные электроды. Увеличение амплитуды ПД, регистрируемого от целого седалищного нерва, наблюдается только до того момента, пока сила раздражения не станет пороговой для всех волокон (максимальная сила раздражения).

Аппликация ракетного топлива в субтоксической концентрации (0,001 %) не приводила к изменению амплитуды составного ПД. При этом уменьшалась скорость проведения сигнала возбуждения, что может свидетельствовать о токсическом действии препаратов. При использовании повышенных концентраций ракетного топлива (0,1 %) их токсический эффект становится более выраженным: так, примерно в два раза снижаются амплитуда и скорость проведения сигнала возбуждения (рис. 1). На основании полученных резуль-

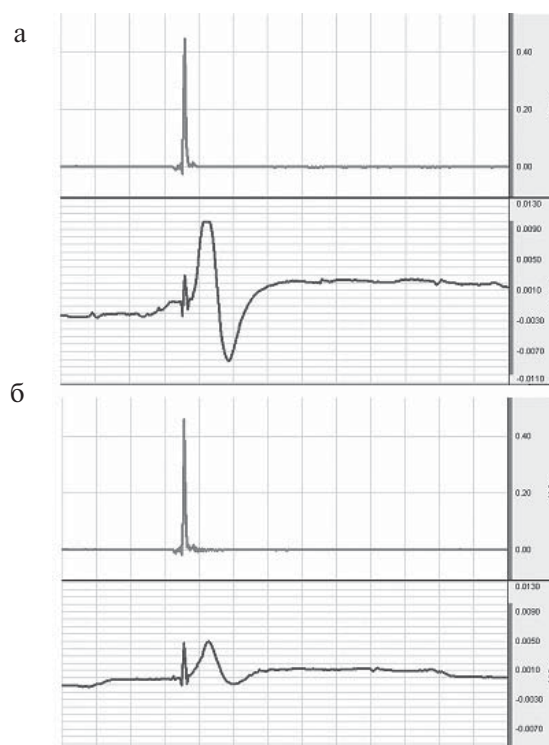


Рис. 1. Составной потенциал действия седалищного нерва лягушки в контроле (а) и в опыте (б) при добавлении гептила (0,1%-ный гептил, 60 с). Верхняя кривая — нанесение раздражающего стимула, нижняя кривая — регистрация составного потенциала действия седалищного нерва.

татов можно сделать вывод, что 1,1-ДМГ оказывает токсическое действие на периферическую нервную систему, по крайней мере, в условиях наших экспериментов. Особого внимания заслуживает факт уменьшения содержания кальция в крови людей, работающих с гептилом, при попадании в организм 1,1-ДМГ [8]. В условиях воздействия на клеточные мембраны высоких концентраций супероксидных радикалов ионы Ca^{2+} способны устремляться внутрь клеток [8]. Выявленное понижение амплитуды ПД и скорости проведения нервного импульса, по нашему мнению, может быть следствием уменьшения концентрации кальция в плазме крови. Дополнительным фактором является также увеличение почечной экскреции Na^+ , которое наблюдается при воздействии 1,1-ДМГ на животных, что также ведет к понижению нервной возбудимости [9].

2. Изучение влияния гептила на показатели красной крови экспериментальных животных.

Известно, что при хроническом введении гептил вызывает множественные системные поражения организма. У рабочих, участвующих в резке и утилизации ракет, подвергающихся воздействию КРТ, значительно возрастает риск возникновения патологии верхних дыхательных путей, хронического бронхита, артериальной гипертензии, периферического ангиодистонического синдрома, анемии, а также изменений со стороны функции печени (гиперферментемия) [9].

Показано, что гептил вызывает гипербилирубинемия у детей [7, 10]. В малых дозах 1,1-ДМГ действует как мембранотропный яд, повреждающий эритроцитарные мембраны. Последние теряют свои эластические свойства, что приводит к стазу в центральных венах и печеночных синусоидах [8].

Анализ показателей крови у экспериментальных животных показал уменьшение количества эритроцитов при введении 0,01%-ного раствора гептила крысам относительно контроля ($p < 0,05$)

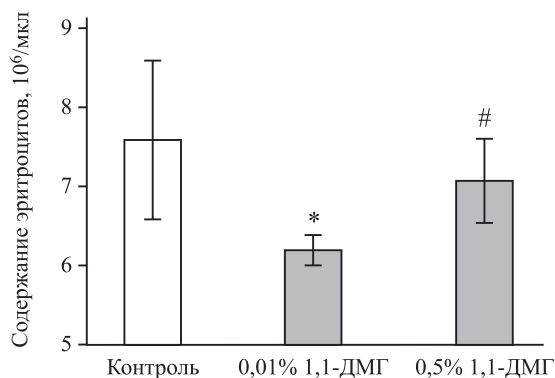


Рис. 2. Влияние гептила на содержание эритроцитов в крови (здесь и на рис. 3 приведены средние значения и доверительные интервалы).

* — достоверное отличие от значения в контроле, # — от значения, полученного при введении 0,01%-ного раствора 1,1-ДМГ ($p < 0,05$).

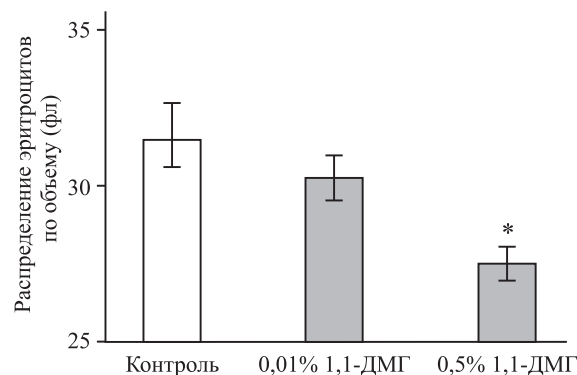


Рис. 3. Влияние гептила на гетерогенность популяции эритроцитов в крови. * — достоверное отличие от значения в контроле ($p < 0,01$).

и достоверное различие ($p < 0,05$) по содержанию эритроцитов между группами, получавшими низкие и высокие дозы гептила (рис. 2). Мы предполагаем, что обнаруженное снижение концентрации эритроцитов может быть связано с их частичным гемолизом, а увеличение при введении больших концентраций гептила по сравнению с введением низких доз гептила может быть обусловлено компенсаторной реакцией, в результате которой в кровь поступают молодые клетки. Обнаружено, что под действием высоких доз гептила гетерогенность популяции эритроцитов достоверно снижается относительно контроля ($p < 0,01$) (рис. 3).

Было обнаружено изменение среднего объема эритроцитов под действием гептила. При низких дозах 1,1-ДМГ (0,01 %) средний объем эритроцитов достоверно увеличивался по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При высоких дозах (1 %) была тенденция к уменьшению объема эритроцитов ($p < 0,06$). Скорость оседания эритроцитов была достоверно ниже у крыс, получавших 0,01%-ный и 1%-ный раствор гептила, по сравнению с контролем. Поскольку данный показатель отражает изменение содержания белков в плазме крови, его уменьшение может быть связано с ацидозом, гипофибриногенемией, гипохолестеринемией.

Обнаружены достоверные различия в осмотической резистентности эритроцитов между опытными и контрольной группами. Максимальная резистентность изменялась только при высоких дозах гептила (1 %). Такое уменьшение осмотической стойкости может быть признаком как снижения стабильности клеточных мембран, так и выброса незрелых эритроцитов. Обнаружено достоверно более высокое, чем в контроле, содержание тромбоцитов у крыс, получавших гептил в низких (0,01 %) и высоких (1 %) концентрациях ($p < 0,02$ и $p < 0,03$ соответственно). Возможно, это связано с влиянием гептила на тромбопоэз. Полученные нами данные согласуются с литературными сведениями [11]. Так, у людей и животных после воздействия 1,1-ДМГ увеличивается концентрация эритроцитов и гемоглобина, что можно объяснить

его влиянием на костный мозг. В последующем количество эритроцитов снижается, что, вероятно, в значительной степени обусловлено гемолизом эритроцитов, который является достаточно типичным признаком при отравлениях гидразинами.

Выводы

1,1-диметилгидразин оказывает выраженное токсическое воздействие на периферическую нервную систему, что выражается в снижении величины амплитуды потенциала действия и скорости проведения возбуждения.

Проведенные эксперименты по изучению влияния 1,1-ДМГ на некоторые показатели крови лабораторных животных показали уменьшение количества эритроцитов, увеличение количества тромбоцитов, уменьшение скорости оседания эритроцитов, уменьшение гетерогенности популяции эритроцитов, увеличение среднего объема эритроцитов, уменьшение осмотической резистентности эритроцитов.

Список литературы

1. Hussain S.M., Frazier J.M. Cellular toxicity of hydrazine in primary rat hepatocytes // *Toxicol. Sci.* 2002. 69. 424–432.
2. Gamberini M., Cidade M.R., Valotta L.A. et al. Contribution of hydrazine-derived alkyl radicals to cytotoxicity and transformation induced in normal c-myc-over expression mouse fibroblasts // *Carcinogenesis*. 1998. 19. 147–155.
3. Sinha B.H. Enzyme activation of hydrazine derivatives // *J. Biol. Chem.* 1983. 258. 796–801.
4. Malca-Mor L. Mutagenicity and toxicity of carcinogenic and other hydrazine derivatives // *Appl. Environ. Microbiol.* 1982. 44. 801–805.
5. Parody S., DeFlora S., Cavanho M. et al. DNA-damaging activity in vivo and bacterial mutagenicity of sixteen hydrazine derivatives as related quantitatively to their carcinogenicity // *Cancer Res.* 1981. 41. 1469–1481.
6. Fitzgerald B.E., Shank R.C. Methylation status of DNA cytosine during the course of induction of liver cancer in hamster by hydrazine sulfate // *Carcinogenesis*. 1996. 17. 2703–2709.
7. Евлашевский Г.Я. Изучение распространенности заболеваний среди детского населения, проживающего в районах ракетно-космической деятельности // *Бюл. Сиб. мед.* 2002. (4). 21–27.
8. Белов А.А. Изменения биохимических показателей крови у работающих с высокотоксичными компонентами ракетного топлива // *Совр. пробл. токсикологии*. 2000. (2). 45–48.
9. Муравлева Л.Е., Кулмагамбетов И.Р., Терехин С.П. и др. Влияние несимметричного диметилгидразина на морфологию печени растущих животных, получающих рацион с низким содержанием белка и высоким содержанием жира // *Успехи соврем. естествознания*. 2008. (8). 62.
10. Панин Л.Е., Перова А.Ю. Медико-социальные и экологические проблемы использования ракет на жидком топливе (гептил) // *Бюл. СО РАМН*. 2006. (1). 124–131.
11. Белов А.А. Особенности токсического действия компонентов ракетного топлива на организм работающих при демонтаже ракетных комплексов (к обоснованию гигиенических и лечебно-профилактических мероприятий): Дис. ... канд. мед. наук. Киев, 2001. 150–167.
12. Любина А.Я., Ильичева Л.П., Катасонова Т.В., Петросова С.А. Клинические лабораторные исследования. М.: Медицина, 1984. 96–103.
13. Евлашевский Г.Я. Study of prevalence of diseases among child's population, resident in the districts of space-rocket activity // *Bul. Sib. med.* 2002. (4). 21–27.
14. Белов А.А. The changes of biochemical blood values of personnel which operate with high-toxic component of rocket fuel // *Sovr. probl. toxikol.* 2000. (2). 45–48.
15. Muravleva L.E., Kulmagambetov I.R., Terechin S.P. et al. Influence of asymmetrical dimethylhydrazine on morphology of liver of growing animals, recipient a ration with low maintenance of protein and high maintenance of fat // *Uspekhi sovrem. estestoznaniya*. 2008. (8). 62.
16. Панин Л.Е., Перова А.Ю. Medico-social and environmental problems of the use of rockets with liquid fuel (heptyl) // *Bul. SO RAMN*. 2006. (1). 124–131.
17. Любина А.Я., Ильичева Л.П., Катасонова Т.В., Петросова С.А. Characteristics of components of rocket fuel toxic action on organism of personnel, which works on rocket complex disassembling (for the ground of sanitary and medical-prophylactic measures): Dis. ... cand. med. sci. Kiev, 2001. 150–167.
18. Любина А.Я., Ильичева Л.П., Катасонова Т.В., Петросова С.А. Clinical and laboratory investigations. M.: Meditsina, 1984. 96–103.

THE INVESTIGATION OF ROCKET FUEL TOXIC INFLUENCE ON PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM AND FUNCTIONAL INDEXES OF LABORATORY ANIMALS BLOOD CELLS

Igor Alekseevich LAVRINENKO¹, Svetlana Esimbekovna BATYRBKOVA²,
Valentina Aleksandrovna LAVRINENKO³, Alina Bitalyevna BABINA³

¹*Scientific Research Institute of Biochemistry of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov st., 2*

²*Kazakh National University named after al-Faraby, Centre of physical and chemical methods of analysis
050012, Almaty, Karasay batyr st., 95a*

³*Novosibirsk State University
630090, Novosibirsk, Pirogov st., 2*

It was determined that 1,1-dimethylhydrazin renders toxic influence on some indexes of the peripheral nervous system of laboratory animals.

1,1-dimethylhydrazine causes the row of changes of basic indexes of animals red blood: diminishing of amount and increase of middle volume of erythrocytes, increase of heterogeneity of their population, diminishing of osmotic resistance and speed of settling of erythrocytes.

Key words: rocket fuel, indexes of blood, indexes of the peripheral nervous system.

*Lavrinenko I.A. – candidate of biology sciences, leader scientist of laboratory of genetic engineering,
e-mail: igor@academ.org*

Batyrbekova S.E. – doctor of chemistry sciences, head of laboratory of ecology, e-mail: batyrbekova@cfhma.kz

Lavrinenko V.A. – professor of chair of physiology, e-mail: igor@academ.org

Babina A.V. – post-graduate student of chair of physiology, e-mail: phisiol@nsu.fen.ru