

М. А. Маркова, Л. Н. Сорокина, В. А. Копанев, И. Г. Антипова

СВЯЗЬ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ С ТОКСИЧНОСТЬЮ АЛИФАТИЧЕСКИХ СПИРТОВ

Новосибирский НИИ гигиены

Состояние биомембраны эритроцитов отражает структурно-функциональную характеристику клеточных мембран, а также функциональное состояние целостного организма [1, 3, 4, 8, 10]. Следовательно, можно ожидать наличия связи между изменениями эритроцитарной мембраны и реакцией организма на воздействие алифатических спиртов. Реакция мембраны эритроцитов на увеличивающиеся концентрации изучаемых веществ (неэлектролитов) в гипоосмотическом буфере характеризуется повышением устойчивости, которая после критической концентрации сменяется нарастающими проявлениями гипоосмотического гемолиза эритроцитов [5, 7, 11].

В связи с этим нами были поставлены следующие задачи: определить концентрации, вызывающие максимальную стабилизацию ($C_{\text{макс}}$) эритроцитарной мембраны в гипоосмотическом буфере *in vitro* при воздействии алифатических спиртов нормального строения (C_3 — C_8), и установить характер взаимодействия $C_{\text{макс}}$ с LD_{50} данного вещества при внутривенном введении.

Эксперименты выполнены на взрослых беспородных крысах-самцах массой 180—220 г. Гепаринизированную кровь в количестве 0,05 мл добавляли к 5 мл 5М натрий-фосфатного буфера (рН 7,4), содержащего 0,425 % NaCl и 0,2 мл водного раствора эмульгированного спирта. Контролем служили пробы, в которые вместо спирта добавляли 0,2 мл дистиллированной воды с эмульгатором. Осмотическую стойкость определяли по методу А. Н. Петрова [6]. Время инкубации 20 мин, температура растворов 30 °С. Мембраностабилизирующий эффект препаратов оценивали по их способности предупреждать гипоосмотический гемолиз. Концентрации спиртов в объемных процентах рассчитывали с двукратным шагом от LD_{50} , которую выражали также в объемных процентах в соответствии с условным пересчетом по формуле: LD_{50} (в мг/кг): $(d \cdot 10)$, где d — плотность вещества. В эксперименте *in vitro* изучали концентрации спиртов, вызывающие эффекты в диапазоне от явных проявлений реакции стабилизации эритроцитарных мембран до полного гемолиза эритроцитов.

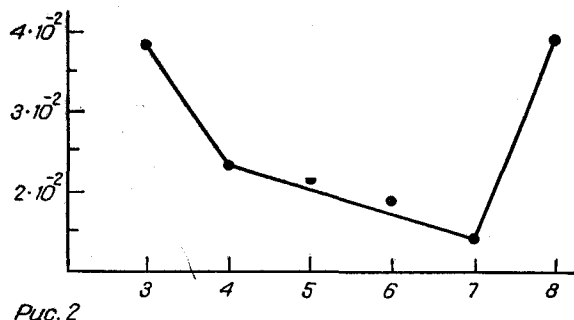
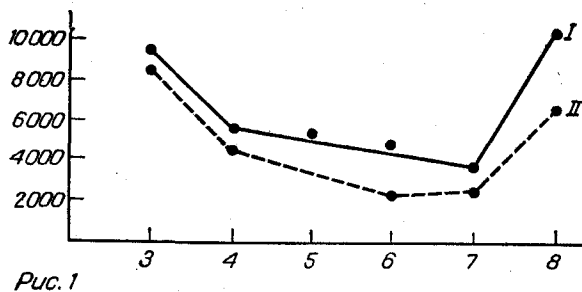


Рис. 1. Соотношение среднесмертельных и средненаркотических доз алифатических спиртов в гомологическом ряду нормального строения при внутрижелудочном введении. По оси абсцисс — число атомов углерода в спирте; по оси ординат — дозы алифатических спиртов (в мг/кг); I — среднесмертельные дозы; II — средненаркотические дозы [8].

Рис. 2. Мембраностабилизирующий эффект алифатических спиртов в гомологическом ряду нормального строения.

По оси абсцисс — число атомов углерода в спирте; по оси ординат — концентрация алифатических спиртов (в об. %).

Влияние алифатических одноатомных спиртов на гипоосмотический гемолиз эритроцитов крыс (в % к контролю)

Спирт	Концентрация спиртов в инкубационной среде, об. %			
	1/64 LD ₅₀	1/32 LD ₅₀	1/16 LD ₅₀	1/8 LD ₅₀
Пропиловый	52,9±0,98	35,2±1,39	96,9±3,10	Полный гемолиз То же » » » » » » » »
Бутиловый	52,4±1,44	37,7±1,93	57,0±2,57	
Амиловый	40,0±1,31	33,7±2,00	62,0±2,23	
Гексиловый	69,2±2,12	33,1±3,57	107,5±2,50	
Гептиловый	59,2±1,73	34,0±1,89	69,9±2,94	
Октиловый	53,9±2,13	31,4±2,22	38,9±2,60	

Экспериментальные данные [2, 9] свидетельствовали о том, что при определении LD₅₀ в гомологическом ряду одноатомных алифатических спиртов нормального строения четко прослеживается возрастание острой токсичности гомологов с числом углеродных атомов от 3 до 7 с последующим снижением токсичности в ряду, начиная с октилового спирта (рис. 1).

Исследование осмотической стойкости эритроцитов зависит от концентрации алифатических спиртов в инкубационной среде (см. таблицу).

В наших опытах увеличение концентрации спирта выше C_{макс} усиливало гемолиз эритроцитов. Это совпадает с данными о том, что высокие концентрации спиртов обуславливают гемолиз эритроцитов, а низкие стабилизируют клеточные мембраны [11].

При анализе экспериментальных данных видно, что эффект C_{макс} эритроцитарной мембраны для всех испытанных веществ достигался при одной и той же концентрации, выраженной в долях от DL₅₀ и равной 1/32. При этом физические концентрации для разных спиртов были неодинаковы. Это свидетельствует о наличии связи между проявлениями токсичности вещества *in vivo* и реакцией устойчивости эритроцитов в гипоосмотическом буфере *in vitro*.

Кривые эмпирической зависимости доза — эффект, полученные в условиях определения C_{макс} *in vitro* и среднесмертельных доз, практически идентичны (рис. 2). Следовательно, интенсивность действия спиртов на мембраны *in vitro* полностью повторяет характер изменения параметров острой токсичности. Такая же зависимость выявляется при аналогичном сопоставлении среднесмертельных и средненаркотических доз.

Таким образом, данная тест-система (*in vitro*) адек-

ватно отражает ситуацию, имеющуюся *in vivo*, и может быть использована для прогностической оценки острой токсичности веществ при ускоренном регламентировании химических загрязнений водных объектов.

Уточнение границ применимости данной тест-системы для экспресс-экспериментального прогнозирования острой токсичности химических веществ требует проведения дальнейших исследований.

Литература

- Брагинская Ф. И., Султанова Г. Г., Зорина О. М. — Бюл. экспер. биол., 1983, № 7, с. 36—38.
- Королев А. А., Красовский Г. Н., Варшавская С. П. — Гиг. и сан., 1970, № 9, с. 88—89.
- Марачев А. Г., Корнев А. В., Дегтева Г. Н. и др. — Вести. АМН СССР, 1983, № 11, с. 65—73.
- Мищенко В. П., Еремينا Е. Л., Гончаренко Л. Л. и др. — Гематол. и трансфузиол., 1985, № 5, с. 39—42.
- Неженцев М. В. — Фармакол. и токсикол., 1981, № 2, с. 188—191.
- Петров А. Н. — Бюл. экспер. биол., 1978, № 1, с. 48—51.
- Петров В. К. — Фармакол. и токсикол., 1985, № 2, с. 72—77.
- Соколов В. В., Грибова И. А., Иванова Л. А. — Гиг. труда, 1981, № 1, с. 5—8.
- Трофимович Е. М., Гурич С. М. Охрана водных объектов при добыче и обогащении руд и углей. М., 1985.
- William R. J., Bross J., Takahashi T., Meryman H. — CRYO-Lett., 1984, vol. 5, p. 269—276.
- Seeman P. — Biochem. Pharmacol., 1966, vol. 15, p. 1632—1637.