УДК 541.6

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ N,N-ДИАЛЛИЛАМИНОКИСЛОТ

Альмова А.А., Бегиева М.Б.

Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, Нальчик, e-mail: bsk@kbsu.ru

Исследованы на токсичность водные растворы полиэлектролитов на основе N,N-диаллил-α-аминокислот. Исследования проводились с применением альтернативных биологических моделей тест-объектов с использованием суспензии сперматозоидов быка. Двигательную активность сперматозоидов быка, подвергавшихся воздействию водных растворов полимеров, до полного прекращения прямолинейно-поступательного движения, наблюдали визуально под микроскопом. Для определения токсического действия водорастворимых (со)полимерных материалов использовали образцы водных растворов концентраций: 0,01; 0,1 и 1% и сравнивали с контрольным раствором. Контрольной пробой служила глюкозо-цитратная среда-маточный раствор, который приготовили согласно ГОСТа. Оценку цитотоксичности исследуемых образцов водорастворимых полимеров проводили по изменению двигательной активности сперматозоидов быка, которая зависит от нарушения клеточных структур и функций. Как критерий оценки цитотоксичности применялся индекс токсичности Is. Результаты исследования показали, что исследуемые водные растворы полимеров на основе алкилированных α-аминокислот при низких значениях концентрации гомополимеров (0,01–0,1%) являются нетоксичными веществами, а сополимеры полученные на основе сомономеров N,N-диаллиламиноэтановая кислота: винилацетат (0,5:0,5), N,N-диаллиламиноаспарагиновая кислота: винилацетат (0,5:0,5) при увеличении концентрации до 1%-го раствора проявляют слаботоксичные свойства.

Ключевые слова: водорастворимые полиэлектролиты на основе алкилированных аминокислот, полимер, мономер, токсичность

DEFINITION OF TOXIC ACTION OF POLYMERIC MATERIALS ON THE BASIS OF N,N-DIALLYLAMINO ACIDS

Almova A.A., Begieva M.B.

Kabardino-Balkar State University, Nalchik, e-mail: bsk@kbsu.ru

Investigated the toxicity of aqueous solutions of polyelectrolytes based on the N, N-diallyl-α-amino acids. The studies were conducted with the use of alternative models of biological test objects with bull sperm suspension. Motor activity of bull sperm exposed to aqueous solutions of polymers, to a complete cessation of straight-forward movement, observed visually under the microscope. To determine the toxic effects of water-soluble (co) polymer samples using aqueous solutions of concentrations: 0,01; 0,1 and 1% compared with the control solution. The control sample served as a glucose-citrate medium, the mother liquor, which is prepared in accordance with GOST. Assessment of cytotoxicity of the samples was carried out water-soluble polymers to change the motor activity of bull sperm, which depends on the violation of the cellular structures and functions. As a criterion for evaluating the toxicity index of cytotoxicity used Is. The results showed that the investigated aqueous solutions of polymers based on α-alkylated amino acids at low concentrations of homopolymers (0,01–0,1%) are non-toxic substances, and copolymers derived from the comonomer N, N-diallilaminoetanovaya acid: vinyl acetate, N, N-diallilaminoasparaginovaya acid: vinyl acetate with increasing concentration of 1% solution exhibit slightly toxic properties.

Keywords: water-soluble polyelectrilytes on a basis allkylated amino acids, polymer, a monomer, toxicity

В условиях постоянного увеличения количества новых химических веществ, поступающих в обращение, актуальной проблемой является их исследование в целях получения информации о потенциальной опасности веществ, а также разработка профилактических мероприятий, предусматривающих предотвращение неблагоприятного воздействия на организм человека и окружающую среду [2].

Выявление и предотвращение неблагоприятного воздействия на организм токсического фактора является одной из главных задач профилактической токсикологии, основным приемом которой служат экспериментальные методы исследований. Применяя общепринятые методы токсикологических исследований для оценки опасности химических веществ на лабораторных животных, токсикологи не имеют достаточных возможностей удовлетворить запросы практики, поэтому возникает необходимость в оптимизации существующих методических подходов. Кроме того, этические аспекты, материальные и временные затраты ограничивают область применения лабораторных животных в токсикологических исследованиях, поэтому не менее актуальным является поиск адекватных альтернативных тест-систем и научное обоснование их прогнозирующей способности [1].

В настоящее время в отечественной практике используются исследования, основанные на результатах скрининговой оценки токсичности – альтернативные биологические тесты для идентификации опасности потенциально вредных факторов [5]. В связи с этим целью нашей работы явля-

лось исследование цитотоксического действия полимерных материалов на суспензии сперматозоидов быка. Для определения токсического действия водорастворимых полимерных материалов использовали образцы водных растворов концентраций: 0,01; 0,1 и 1 %.

Материалы и методы исследования

Известно, что суспензия сперматозоидов быка обладает высокой чувствительностью к токсичным веществам. Визуально под микроскопом наблюдали двигательную активность сперматозоидов быка, подвергавшихся воздействию водных растворов полимеров, до полного прекращения прямолинейно-поступательного движения.

Для определения степени токсичности водные растворы сравнивали с контрольным раствором. Контрольной пробой служит глюкозо-цитратная среда – маточный раствор, который приготовили согласно ГОСТ.

Опытные образцы водных растворов полимеров и сополимеров приготовили с концентрацией 0,01–1 % объемом 1 мл и добавляли 0,5 мл маточного раствора, чтобы конечная концентрация сперматозоидов в образцах (контрольной и опытных) соответствовало 6–7 млн/мл. Все пробирки с опытными и контрольными растворами были помещены в водяную баню при температуре +40 °С в течение всего эксперимента.

Главным критерием оценки функционального состояния сперматозоидов принимается длительность их движения. Оценка подвижности производилась микроскопированием капли спермы из опытных растворов, сравнивая с контрольной пробой каждые 10 минут. Предметный столик микроскопа должен быть постоянно нагрет до температуры +40 °С. Время подвижности сперматозоидов определялась как среднее между двумя последними измерениями, из которых первое определение регистрирует наличие хотя бы одной-двух поступательно-подвижных сперматозоидов, а второе – полное прекращение поступательного движения [3].

Индекс токсичности испытуемого раствора определялся отношением величин времени подвижности сперматозоидов в опыте и контроле:

$$Is = (S_{ср}^{опыт}/S_{ср}^{контр})\cdot 100\,\%,$$

где $S_{ср}^{опыт}$ и $S_{ср}^{контр}$ – средние арифметические значения суммарной двигательной активности сперматозоидов в опыте и контроле.

Значения индекса токсичности могут быть от 0 до бесконечности. Если значения индекса токсичности испытуемой вытяжки входит в нормативный интервал 60–120 %, то вытяжка признается нетоксичной при 60 % < Is < 120 % [4, 6]. Полученные данные приведены в табл. (1–4).

Результаты исследования и их обсуждение

Оценку цитотоксичности исследуемых образцов водорастворимых полимеров проводили по изменению двигательной активности сперматозоидов быка, которая зависит от нарушения клеточных структур и функций. Как критерий оценки цитотоксичности применялся индекс токсичности Is. Доза водорастворимых полимеров и сополимеров, которая является недействующей для целостного организма млекопитающих, при прямом воздействии на клетку может оказывать сильное цитотоксическое действие, поэтому для выявления цитотоксичности на сперматозоидах быка нами был подобран диапазон концентраций 0,01–1 %, в пределах которого выявлена прямая зависимость подвижности сперматозоидов быка от концентрации опытных образцов (табл. 1–4).

Таблица 1

Результаты испытания для поли-N,N-диаллиламиноэтановой кислоты (пДАУ)

Раствор	Концентрация водных растворов С, %	Общее время жизни $t_{общ.}$ ч	$t_{опыт}$, мин	$t_{контр}$, мин	Выживаемость сперм, %	Токсичность *Т*, %
пДАУ	0,01	1,49	14	15,7	89,2	Нетоксичное
	0,1	1,37	13,6	16,2	83,9	Нетоксичное
	1,0	1,30	11,5	15,4	74,7	Слаботоксичное

Таблица 2

Результаты испытания для поли-N,N-диаллиласпарагиновой кислоты (пДААсК)

Раствор	Концентрация водных растворов С, %	Общее время жизни $t_{общ.}$ ч	$t_{опыт}$, мин	$t_{контр}$, мин	Выживаемость сперм, %	Токсичность *Т*, %
п ДААсК	0,01	1,41	14,3	15,8	90,5	Нетоксичное
	0,1	1,35	14,1	16,3	87,6	Нетоксичное
	1,0	1,29	11,2	15,1	74,2	Слаботоксичное

Как видно из табл. 1–4, двигательная активность сперматозоидов сохраняется в опытных образцах при низких значениях концентрации водных растворов полимеров, столько же времени, что и в контрольном растворе. Выживаемость уменьшается при увеличении концентрации водных растворов полимеров на порядок, следовательно, можно предположить, что исследуемые водные растворы полимеров на основе алкилированных α-аминокислот при низких значениях концентрации гомополимеров

(0,01–0,1 %) являются нетоксичными веществами, а сополимеры, полученные на основе сомономеров ДАУ:ВА, ДААсК:ВА, при увеличении концентрации до 1 %-ного раствора проявляют слаботоксичные свойства.

Таблица 3

Результаты испытания для сополимера на основе N,N-диаллиламиноэтановой кислоты (ДАУ) и винилацетата (ВА), взятых в соотношении (1 моль:1 моль)

Раствор сополимера	Концентрация С, %	Общее время жизни $t_{общ.}$ ч	$t_{опыт}$, мин	$t_{контр}$, мин	Выживаемость спермы, %	Токсичность *Т*, %
ДАУ:ВА	0,01	1,42	12,4	16,0	77,5	Нетоксичное
	0,1	1,36	13,8	18,8	73,4	Слаботоксичное

Таблица 4

Результаты испытания для сополимера на основе N,N-диаллиласпарагиновой кислоты (ДААсК) и винилацетата (ВА), взятых в соотношении (1 моль:1 моль)

Раствор сополимера	Концентрация С, %	Общее время жизни $t_{общ.}$ ч	$t_{опыт}$, мин	$t_{контр}$, мин	Выживаемость спермы, %	Токсичность *Т*, %
ДААсК:ВА	0,1	1,37	13,6	16,2	83,9	Нетоксичное
	1,0	1,30	9,5	13,0	73,1	Слаботоксичное

Заключение

Результаты наших исследований по изучению цитотоксического действия водных растворов полимеров применением суспензии сперматозоидов быка согласуются с имеющимися в литературе данными о том, что механизм цитотоксического действия полимеров основан на активном взаимодействии их компонентов с липидами клеточных мембран, в результате чего мембрана диссоциирует на смесь различных комплексов «липид-белок-токсичное вещество», что приводит к нарушению клеточного метаболизма, проницаемости клеточных мембран и энергетического обмена.

Известно, что главным источником энергии для поступательного движения сперматозоидов является аденозинтрифосфат (АТФ), синтез которых осуществляют митохондрии. Двигательная функция сперматозоидов сохраняется до тех пор, пока в клетке митохондрии синтезируют АТФ.

Таким образом, можно предположить, что действие изученных водорастворимых полимеров и сополимеров на сперматозоиды не приводит к нарушению проницаемости мембран митохондрий и не вызывает прекращение их работы, следовательно, не изменяет энергетический обмен клетки.

Список литературы

1. Оценка токсичности товаров бытовой химии. Метод invitro на кратковременной суспензионной культуре подвижных клеток-сперме быка / Я.Г. Двоскин, Т.А. Меньшикова, Т.А. Федосеева, Н.В. Завьялов, А.И. Халепо // Тезисы докладов. 2-й съезд токсикологов России 10–13 ноября. – М., 2003. – С. 86–87.

2. Лаппо В.Г., Перова Н.М. Оценка токсичности чистящих и моющих средств invitro на кратковременной суспензионной культуре подвижных клеток-сперме быка // Токсикологический вестник. – 2004. – №6. – С. 17–60.

3. Методические указания, разработанные государственной системой санитарно-эпидемиологического нормирования Российской Федерации: МУ 1.1.037–95.

4. Оценка токсичности товаров бытовой химии (ТБХ): экспресс-метод оценки токсичности моющих и чистящих средств с использованием в качестве тест-объекта спермы крупного рогатого скота. – МР №29 ФЦ/4746 от 27.12.01.

5. Федосеева Т.А. Альтернативные биологические модели в работе токсикологических подразделений центров гигиены и эпидемилогии // Гигиеническая наука и санитарная практика: сб. мат. научно-практической конференции. – М., 2005. – С. 127–129.

6. Федосеева Т.А. Применение альтернативных биологических тест-объектов для прогнозирования токсичности и опасности товаров бытовой химии // Окружающая среда и здоровье: сб. мат. Всероссийской научно-практ. конференции молодых ученых и специалистов. – Суздаль, 2005. – С. 537.

References

1. Dwoskin Ya.G., Menshikova T.A., Fedoseeva T.A., Zavialov N.V., Halepo A.I. Evaluationof toxicityof household chemicals. The method ofin vitro onshort-termsuspension cultureof motile cells, spermbull.Abstracts. 2ndCongress ofToxicologyNovember 10-13, Russia, Moscow, 2003, pp. 86–87.

2. Lappo V.G., Perova N.M. Assessmentof toxicityand detergentin vitrofor a briefinterimsuspension cultureof motile cells, spermbull.Poisonvestnik, 2004, no. 6, pp. 17–60.

3. Guidelines, developed bythe statesanitary-epidemiologicalstandardizationof the Russian Federation MU1.1.037–95.

4. Evaluation ofthe toxicityof household chemicals(TBH). Rapidmethod for estimating thetoxicity ofdetergents and cleaning products, using as a test objectof semenof bovine animals, MR no. 29 fromFTS/474627.12.01.

5. Fedoseeva T.A. Alternativebiological modelsintoxicologydepartmentsof Hygiene andEpidemiologyCenters. Hygienicscience andsanitarypractice / Sb.mat. Scientific-practical conference. Moscow, 2005, pp. 127–129.

6. Fedoseeva T.A. The use of alternativebiologicaltest objectsfor predictingthe toxicityand hazardsof household chemicals. Environment and Health. Sb.mat. All-Russianscientific-practical. Conference of YoungScientists and Specialists. Suzdal, 2005, pp. 537.

Рецензенты:

Беев А.А., д.х.н., профессор, зав. кафедрой химии Кабардино-Балкарской государственной сельскохозяйственной академии им. В.М. Кокова, г. Нальчик;

Утижев А.З., д.с.-х.н., профессор Кабардино-Балкарской государственной сельскохозяйственной академии им. В.М. Кокова, г. Нальчик.

Работа поступила в редакцию 30.07.2012.