

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



Российский регистр потенциально опасных
химических и биологических веществ

Научно-практический журнал
Издается с июля 1993 года, выходит 1 раз в 2 месяца

№6 (159), 2019

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Х.Х. Хамидулина КОЛОНКА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА.....	2	Kh.Kh. Khamidulina FROM THE EDITOR-IN-CHIEF.....	2
И.Е. Шкаева, С.А. Солнцева, О.С. Никулина, А.И. Николаев, С.А. Дулов, А.В. Земляной ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ ФТАЛАТОВ	3	I.E. Shkaeva, S.A. Solntseva, O.S. Nikulina, A.I. Nikolaev, S.A. Dulov, A.V. Zemlyanoy TOXICITY AND HAZARD OF PHTHALATES	3
О.М. Алексеева, А.В. Кременцова, А.В. Кривандин, О.В. Шаталова, Ю.А. Ким МОДЕЛЬНЫЕ БИОМЕМБРАНЫ КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИОННОГО ДИАПАЗОНА ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, НЕ ВЫЗЫВАЮЩЕГО ДЕСТРУКЦИЮ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ.....	10	O.M. Alekseeva, A.V. Kremontsova, A.V. Krivandin, O.V. Shatalova, Yu.A. Kim MODEL BIOMEMBRANES AS TEST OBJECTS FOR DETERMINING THE CONCENTRATION RANGE OF CHEMICALS WITHOUT DESTROYING THE BIOLOGICAL OBJECTS.....	10
К.И. Усов, Т.А. Гуськова, Г.Г. Юшков АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ АДЕМЕТИОНИНА ПРИ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ	28	K.I. Usov, T.A. Gus'kova, G.G. Jushkov ANTIOXIDANT EFFECTS OF ADEMETIONINE UNDER ADMINISTRATION OF ANTI-TUBERCULOSIS DRUGS IN TOXIC DOSES TO RATS.....	28
К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Т.А. Гуськова, Р.Г. Гусейнов СНИЖЕНИЕ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ ПРОВЕДЕНИЕМ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ДИАЛИЗА С ВКЛЮЧЕНИЕМ ГИДРОКАРБОНАТА НАТРИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КРЫС УРАНИЛ АЦЕТАТОМ ДИГИДРАТОМ	33	K.V. Sivak, T.N. Savateeva-Lyubimova, T.A. Gus'kova, R.G. Guseinov REDUCTION OF NEPHROTOXICITY BY PERITONEAL DIALYSIS WITH ADDITION OF SODIUM HYDROCARBONATE DURING POISONING WITH URANIUM ACETATE DIHYDRATE IN RAT	33
Т.О. Абдулмуталимова ОЦЕНКА КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПОДЗЕМНЫХ ВОД С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ МЫШЬЯКА В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКОВ ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН	39	T.O. Abdulmutalimova ASSESSMENT OF CARCINOGENIC RISK TO PUBLIC HEALTH WHEN USING GROUNDWATER WITH HIGH ARSENIC CONTENT AS SOURCES OF DRINKING WATER SUPPLY ON THE EXAMPLE OF THE REPUBLIC OF DAGESTAN.....	39
Г.Ф. Мухаммадиева, Д.О. Каримов, А.Б. Бакиров, Т.Г. Кутлина, Я.В. Валова, Э.Р. Кудояров, Н.Ю. Хуснутдинова ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА HMOX1 В ПЕЧЕНИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОВЫМ ГЕПАТИТОМ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ.....	45	G.F. Mukhammadieva, D.O. Karimov, A.B. Bakirov, T.G. Kutlina, Ya.V. Valova, E.R. Kudoyarov, N.Yu. Khusnutdinova HMOX1 GENE EXPRESSION IN THE LIVER OF RATS WITH EXPERIMENTAL TETRACHLOROMETHANE HEPATITIS AND ITS CHANGE UNDER THE INFLUENCE OF HEPATOPROTECTORS.....	45
В.А. Грынчак, И.И. Ильюкова, С.И. Сычик НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГИГИЕНИЧЕСКИХ РЕГЛАМЕНТОВ СОДЕРЖАНИЯ ПИКОЛИНАФЕНА В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА.....	50	V.A. Hrynchak, I.I. Ilyukova, S.I. Sychik SCIENTIFIC BASIS OF HYGIENIC REGULATIONS OF PICOLINAPHENE CONTENT IN HUMAN ENVIRONMENT.....	50
Е.А. Зубакина, Н.Б. Иваненко, Н.В. Столярова, А.А. Ганеев, В.А. Кашуро, Д.В. Байбуз, М.М. Безручко ПРЯМОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РТУТИ И СВИНЦА В КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ВЛИЯНИЕ ИХ УРОВНЯ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ПОТЕРЬ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ	56	E.A. Zubakina, N.B. Ivanenko, N.V. Stolyarova, A.A. Ganeev, V.A. Kashuro, D.V. Baibuz, M.M. Bezruchko DIRECT DETERMINATION OF THE CONTENT OF MERCURY AND LEAD IN THE BLOOD OF PREGNANT WOMEN AND THE INFLUENCE OF THEIR LEVEL ON THE TERMINATION OF PREGNANCY IN EARLY TERMS.....	56
□ Съезды, конференции, совещания		□ Congresses, conferences, meetings	
Х.Х. Хамидулина МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА» Г. МИНСК.....	62	Kh.Kh. Khamidulina INTERNATIONAL CONFERENCE «HEALTH AND ENVIRONMENT» NOVEMBER 14-15, 2019, MINSK (REPUBLIC OF BELARUS).....	62
□ Перечень публикаций, помещенных в журнале «Токсикологический вестник» в 2019 году	63	□ List of writings published in «Toxicological Review» in 2019.....	63

Дорогие читатели и авторы журнала!

Время быстро течет! Скоро Новый 2020 год!

За истекший период много сделано редакционной коллегией по повышению рейтинга журнала, создан новый сайт журнала, работает электронная редакция. Завершается подготовка к вступлению в Scopus, проведен конкурс научных работ молодых ученых и специалистов, который позволил выявить новые имена талантливых перспективных ученых.

Спасибо ВАМ за поддержку журнала, за актуальные интересные статьи! Примите самые искренние поздравления с Новым годом и Рождеством. Будьте здоровы, счастливы! Пусть работа приносит Вам удовлетворение!

Главный редактор
Х.Х. Хамидулина



УДК 615.9 : 661.74

ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ ФТАЛАТОВ

(Анализ литературных сведений)

И.Е. Шкаева, С.А. Солнцева,
О.С. Никулина, А.И. Николаев,
С.А. Дулов, А.В. Земляной

ФГУП «Научно-исследовательский институт
гигиены, профпатологии и экологии человека»
ФМБА России, 188663, г. Санкт-Петербург,
Российская Федерация

Проведен анализ литературных сведений по токсичности и опасности производных фталевых кислот. Показано, что фталаты широко используются в различных отраслях хозяйства в качестве пластификаторов. При однократном поступлении в организм фталаты, как правило, являются малотоксичными и малоопасными веществами. Повторное воздействие этими соединениями приводит к их накоплению в организме, оказывая политропное действие, с поражением печени, почек, легких, обладают эмбриотоксическим и гонадотоксическим эффектом.

Показано, что изученные фталаты представляют опасность для работающих при воздействии в виде аэрозолей в воздухе производственных помещений. По итогам анализа и обобщения литературных сведений сделаны основные выводы: для объективной оценки опасности производных фталевых кислот необходимо изучение токсического действия этих соединений в подостром и хроническом экспериментах. Установление класса опасности фталатов на основе изучения лишь острой токсичности может привести к ошибочному заключению, с негативными последствиями для здоровья и жизни персонала и населения.

Ключевые слова: фталаты, токсичность, опасность.

Фталаты по химической структуре являются производными *фталевых кислот*, по физико-химическим свойствам представляют собой, в основном, малолетучие, высококипящие жидкости, малорастворимые в воде [1 – 4].

Вследствие уникальных эксплуатационных характеристик, эти вещества широко применяются в различных отраслях хозяйства в качестве пластификаторов в составе разнообразных полимерных материалов (в косметике, медицине, в производстве игрушек, обуви, строительных материалов и др.).

Столь широкое использование фталатов определяет необходимость оценки их опасности для человека на основе анализа и обобщения весьма разрозненных данных о токсическом действии этих соединений.

Анализ литературных сведений об особенностях проявления токсических свойств производных фталевых кислот [1 – 4] показал, что при однократном внутрижелудочном, внутрибрюшинном, накожном воздействии фталаты являются малотоксичными соединениями (табл. 1).

При этом фталаты с числом атомов углерода до 6 являются более токсичными по сравнению с соединениями, содержащими более 6 атомов углерода в молекуле. Параметры острой ингаляционной токсичности для большинства соединений фталевых кислот не установлены в связи с их низкой летучестью.

В условиях длительного поступления в организм фталаты способны накапливаться и вызывать хроническую интоксикацию, иногда с летальным исходом [10]. Общетоксическое действие этих веществ характеризуется политропностью: нарушаются трофические процессы, функции печени, почек, системы крови, ЦНС. Некоторые из них хорошо проникают через неповрежденную кожу.

Среди производных фталевых кислот наиболее выраженным токсическим действием обладают диметилфталат и диметилтерефталат (первые члены ряда фталатов с 2 атомами углерода в молекуле). Эти соединения заслуживают внимания и в плане сравнительной оценки изомеров фталатов.

Шкаева Ирина Евгеньевна (Shkaeva Irina Evgenievna), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, ieshkaeva@list.ru

Солнцева Светлана Андреевна (Solntseva Svetlana Andreevna), младший научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

Никулина Ольга Сергеевна (Nikulina Olga Sergeevna), младший научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

Николаев Анатолий Иванович (Nikolaev Anatoliy Ivanovich), кандидат химических наук, старший научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

Дулов Сергей Анатольевич (Dulov Sergey Anatolievich), кандидат медицинских наук, доцент, заместитель заведующего отделом токсикологии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, niigrech@rihoorhe.ru

Земляной Александр Васильевич (Zemlyanoy Aleksandr Vasilievich), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией общей токсикологии и гигиенического регламентирования ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

Параметры токсичности фталатов

Название вещества (по ИЮПАК), № CAS	DL ₅₀ , в/ж, (н/к, в/в, мг/кг)	CL ₅₀ , мг/м ³
Диметилфталат (диметилбензол-1,2-дикарбоксилат),* 131-11-3	5500 - 9000, 6800 (н/к 12000 -14000)	10000
Диметилтерефталат (диметилбензол 1,4-дикарбоксилат), 120-61-6	> 3200	> 6000
Диэтилфталат (диэтилбензол-1,2-дикарбоксилат), 84-66-2	8600 - 6172	-
Дибutilфталат (дибутилбензол-1,2-дикарбоксилат), 84-74-2	8000 - 23000, (в/б 3570, в/в - 720)	4250 -25000
Дипентилфталат (дипентилбензол-1,2-дикарбоксилат), 131-18-0	-	-
Дигексилфталат (дигексилбензол-1,2-дикарбоксилат), 84-75-3	29600	-
Диоктилфталат (бис(2-этилгексил) бензол-1,2-дикарбоксилат), 53306-52-8	35500	-
Дигептилфталат (бис(3- метилгексил) бензол-1,2-дикарбоксилат), 117-81-7	30000 - 36000 (в/б - 30700 - 14000, в/в - 250 - 1060)	10600
Диоктилтерефталат (бис(2-этилгексил) бензол-1,4-дикарбоксилат), 6422-86-2	-	-
Динонилфталат (динонилбензол-1,2-дикарбоксилат), 84-76-4	21500 (н/к > 3160)	> 4400

Примечание: * - в российской литературе фталаты ошибочно обозначены как бензолдикарбонаты. Эфиры терефталевой и фталевой кислот по номенклатуре ИЮПАК называются карбоксилатами.

Диметилфталат (ДМФ) представляет собой маслянистую жидкость, температура кипения 282°C, плотность 1,189 (20°/4°), растворимость в воде 0,45 % (20°).

При однократном воздействии ДМФ является малотоксичным, DL₅₀ при внутрижелудочном введении составляет, по различным данным [1 – 3], от 5500 до 9000 мг/кг для белых мышей и от 4390 до 9000 мг/кг для крыс, причем самки более чувствительны к действию вещества. При 4-часовом ингаляционном воздействии CL₅₀ установлена на уровне 10000 мг/м³. Клиническая картина при остром отравлении характеризуется снижением координации движений, гиподинамией, кифозом, слезотечением, сужением глазной щели, образованием красной корочки вокруг носа и глаз.

ДМФ оказывает кожно-резорбтивное действие. DL₅₀ при однократном нанесении на кожу крыс – 12000 – 14000 мг/кг [3], при повторных аппликациях (в течение 90 дней) > 4 мл/кг [2]. При субхро-

ническом внутрижелудочном введении крысам DL₅₀ составила > 3600 мг/кг, у подопытных животных отмечали снижение массы тела, изменение гемоглобина крови, увеличение массового коэффициента печени [1]. NOEL установлен на уровне 1862 мг/кг/день.

Хроническое ингаляционное воздействие ДМФ (по 5 ч ежедневно в течение 4 месяцев) в концентрации 2 мг/м³ вызывало у животных функциональные сдвиги в нервной системе и печени, изменения периферической крови [3]. У кошек при ингаляционном воздействии вещества в концентрации 2000 мг/м³ (в виде тумана) – раздражение слизистых оболочек, слюнотечение, легкое возбуждение; при 10000 мг/м³ эти явления усиливались, после окончания опыта – вялость, рвота.

Диметилтерефталат (ДМТФ) представляет собой белый порошок с кристаллами, температура плавления 140°C, температура кипения 288°C, в воде нерастворим.

Таблица 2

Сравнительная характеристика параметров острой токсичности диметилфталата и диметилтерефталата

Показатели	Диметилфталат	Диметилтерефталат
LD ₅₀ , мг/кг, в/ж	5,840 - 4,390	> 6500
LD ₅₀ , мг/кг, наочно	38000	-
CL ₅₀ , мг/м ³	10000	> 6000
NOEL, мг/кг/день, в/ж	1862	660 1277 мг/кг/день (F)

При внутрижелудочном введении крысам DL₅₀ по одним данным [2], > 3200 мг/кг, по другим [3] – > 6500 мг/кг, LOEL установлен на уровне 86,4 мг/кг в день. При внесении ДМТФ в конъюнктивальный мешок отмечается раздражение слизистых оболочек глаз. При однократном и четырехкратном ингаляционном воздействии аэрозоля конденсации и паров диметилтерефталата отмечено выраженное раздражающее действие на слизистые оболочки глаза и дыхательных путей с умеренными гемодинамическими расстройствами. Установлена CL₅₀ для крыс 70 мг/м³ [2].

При хроническом воздействии ДМТФ в концентрациях 70 – 40 мг/м³ обнаружены нарушения функции нервной и сосудистой систем, печени, анемия, ретикулоцитоз и гипотония, в органах дыхания обнаружен хронический воспалительный процесс [11], 30 % животных погибали от нарушения кровообращения. Кроме этого, вещество обладает репродуктивной токсичностью [24]. LOEL диметилтерефталата установлен на уровне 0,08 мг/м³, Lim_{ch} – 1 мг/м³.

Показано также, что ДМТФ обладает раздражающим действием. Повторное многократное нанесение на кожу кроликов вызывает изменения типа дерматита; при проникновении через кожу появляются нарушения функций нервной системы и кровообращения.

Сравнительная характеристика ДМФ и ДМТФ показала, что по характеру проявлений остро и хронического отравлений эти соединения близки, однако диметилфталат несколько токсичнее диметилтерефталата (табл. 2).

Из соединений фталевых кислот с числом атомов углерода более 6 заслуживает внимания широко используемый диоктилфталат (диоктиловый эфир ортофталевой кислоты, ДОФ), C₂₄H₃₈O₄ представляет собой прозрачную маслянистую жидкость, температура кипения 400°C, мало растворим в воде. В экспериментах на лабораторных

животных (мыши, крысы) при однократном внутрижелудочном введении показана низкая токсичность ДОФ, DL₅₀ > 9800 – > 40 000 мг/кг. CL₅₀ для мышей при однократном 4-часовом ингаляционном воздействии превышала 10620 мг/м³. После экспозиции отмечали раздражение слизистых оболочек, гиподинамию, нарушение координации движений. Восстановление подопытных животных происходило в течение 24 часов [16]. По данным других авторов у крыс при однократном ингаляционном воздействии ДОФ в течение 4 часов обнаружено снижение массы тела, кровоизлияния в легких, пороговая концентрация – LOAEC составила 300 мг/м³ [11].

По мнению исследователей, при ингаляционном воздействии ДОФ обладает высокой проникающей способностью – 75 % вещества проникает в слизистые оболочки, 11 % в легкие, 2 % в другие ткани [24].

При внутривенном введении вещества среднесмертельная доза для крыс составила 250 – 1060 мг/кг. Обнаружено также, что внутривенное введение ДОФ индуцировало отек альвеолярных стенок, кровоизлияния и лейкоцитарные инфильтрации в легочной ткани [24]. Через 4 часа после воздействия вещество и его метаболиты обнаруживали в кишечнике мышей, желчном пузыре, легких, печени, жировой ткани. У крыс через 2 часа после воздействия вещества метаболиты находились в крови, печени и легких (60 – 70 %).

На основании полученных данных исследователи предположили, что ДОФ индуцирует патологию легких при внутрижелудочном, ингаляционном и внутривенном пути воздействия, вещество относится к соединениям, токсичным для органов дыхания.

Показана низкая проникающая через кожу способность ДОФ – 87 % вещества остается на коже, меньше 1,5 % проникает в кожу и мышечную ткань [32].

Субхроническое ингаляционное воздействие аэрозоля ДОФ вызывало у крыс обратимое увеличение массы легких, изменение в альвеолярных перегородках, пролиферацию тучных клеток, LOAEC = 1000 мг/м³, NOAEC = 50 мг/м³ [25]. Пороговые уровни – LOAELs по летальному эффекту для крыс, кроликов и мышей при внутрижелудочном введении ДОФ в течение 5 – 14 дней составляли от 1000 до 5000 мг/кг/день [26].

Хроническая энтеральная интоксикация ДОФ, путем добавления в корм лабораторным животным, проявлялась дозозависимым увеличением веса легких, LOAEL составила 146,6 – 1266,1 мг/кг/сут, NOAEL 28,9 – 292,2 мг/кг/сут [27, 28]. По данным других авторов, после 108 недель энтерального воздействия ДОФ на крыс NOAEL установлена на уровне 2000 мг/кг/день [29]. Сделано заключение о низкой токсичности вещества при внутрижелудочном введении [3].

При оценке токсичности диоктилфталата на крысах, получавших вещество в концентрациях 0,1, 0,5 и 1,0 % путем добавления в корм в течение 90 дней обнаружено снижение гемоглобина, гематокрита, глюкозы в сыворотке крови и увеличение относительной массы печени у всех животных при воздействии ДОФ в высокой дозе [29].

Анализ литературных сведений по влиянию фталатов на репродуктивную функцию подопытных животных позволил выявить гонадотропный, эмбриотоксический эффекты, которые проявляются при относительно высоких дозах, что не позволяет оценивать их как специфические [11]. Обнаружено также тератогенное, мутагенное действие отдельных фталатов [12]. Так, например, исследователи регистрировали изменения в семенниках плодов беременных крыс при воздействии ди-(н-бутил)фталата [14, 15].

Имеются сообщения о нарушении фертильности крыс при потреблении питьевой воды, содержащей фталаты в концентрации 1 мг/л [18, 20]. При изучении способности дибутилфталата (ДБФ) влиять на фертильность в опытах на самках крыс (в течение двух месяцев во время пубертатного периода вещество поступало с кормом в дозе 12 и 50 мг/кг массы тела в день) обнаружено нарушение полового созревания потомства (снижение относительной массы семенников, задержка открытия влагалища и начала первого эструса). В эксперименте на самках крыс и кроликов доказано, что под влиянием фталатов подавляется секреция эстрадиола, происходит супрессия овуляции, расстройство эстрального цикла, нарушение фолликулогенеза с формированием поликистоза яичников [20]. При применении диэтилгексил- и дибутилфталатов беременным самкам крыс и мышей обнаружено повышение частоты

пренатальной гибели плодов, мертворождаемости, врожденных пороков, в том числе половой системы (крипторхизма и гипоспадии); снижение веса плодов, у самцов – веса яичек и эпидидимиса; уменьшение диаметра семенных канальцев и числа клеток Сертоли; в дальнейшем снижение продукции сперматозоидов у потомства. Введение ДБФ в дозе 500 и 1000 мг/кг самцам крыс приводило к существенному снижению массы яичек в течение 4 – 6 дней [19 – 22]. По мнению авторов, причиной нарушений половой системы самцов является снижение продукции тестостерона эмбриональными яичками вследствие антиандрогенного действия производных фталевой кислоты. Исследователи отмечают большую чувствительность беременных самок к действию ДОФ (снижение массы тела), LOAEL – 666 – 856 мг/кг/день, NOAEL – 357 мг/кг/день [29 – 31].

При изучении процесса трансформации фталатов показано, что в организме эти соединения постепенно превращаются в метаболиты, которые, по мнению авторов, негативно влияют на печень, почки, органы дыхательной системы [13, 16, 17]. Так, например, ДОФ в высоких дозах накапливается в печени, почках, жировой ткани, в последствие подвергается трансформации с образованием 15 – 29 метаболитов.

Показано также, что из организма подопытных животных при однократном поступлении ДОФ выводится в течение 72 часов с мочой – 51 % и с фекалиями – 43 % [32, 33].

Вероятной точкой приложения фталатов исследователи считают митохондрии, функция которых нарушается в результате изменения проницаемости внутренней мембраны и ингибирования сукцинатдегидрогеназы.

У человека отравление фталатами в субклинической стадии проявляется снижением кожной чувствительности, особенно болевой, преимущественно в дистальных отделах конечностей. Позже присоединяются боли в конечностях, судороги, наступающие периодически в состоянии покоя. В дальнейшем формируется чувствительная форма полиневрита (полиневропатия). Наряду с этим, (например, при воздействии, дибутилфталата) могут появляться вегетативно-сосудистые нарушения: похолодание и синюшность кистей и стоп, потливость и др.

Выраженные формы отравления фталатами сопровождаются гипотрофией мышц в дистальных отделах конечностей, парезами, фасцикуляцией, сгибательной контрактурой пальцев, нарушениями чувствительности. Отмечают также астению: головную боль, тяжесть в голове, нарушение памяти, внимания, сна, снижение работоспособности. В ряде случаев обнаружено нарушение менструальной функции, уменьшение числа беременностей, повышение числа само-

произвольных абортов [17 – 19]. У работающих с ДМФ выявлены полиневриты. В случае попадания ДМФ в глаза человека возможен химический ожог.

В воздухе производственных помещений фталаты могут представлять серьезную опасность для персонала, поскольку обладают широким диапазоном токсического действия. Выделение в воздух рабочих помещений резко усиливается при всех операциях, связанных с нагреванием, особенно до 200 °С и выше. Все изученные фталаты отнесены к высоко опасным соединениям (2 класс опасности).

При регламентировании производных фталевых кислот в воздухе рабочей зоны установлены следующие гигиенические нормативы:

– ПДК максимальная разовая 1 – 1,5 мг/м³, ПДК среднесменная 0,5 – 0,3 мг/м³ для фталатов с числом атомов углерода менее 5;

– ПДК максимальная разовая 3,0 мг/м³, ПДК среднесменная – 1,0 мг/м³ для фталатов с числом атомов углерода в молекуле 5 и более за исключением диоктилфталата, для которого установлена максимальная разовая ПДК – 1,0 мг/м³ (табл.3).

В атмосферном воздухе для этих соединений утвержден ОБУВ на уровне 0,1 мг/м³ [7].

Следует отметить, что 6 фталатов (ди-2-этилгексилфталат, дибутилфталат, бензилбутилфталат, диизононилфталат, ди-изодецилфталат, ди-н-октилфталат) запрещены Европейским союзом (с июля 2005 г.) к использованию при изготовлении продукции для детей и ограничены к применению – не более 0,1 % в другой продукции.

По результатам проведенного анализа литературных сведений сделаны следующие выводы:

– фталаты представляют опасность при поступлении через дыхательные пути (воздействие на легкие) в виде аэрозоля;

Таблица 3

Гигиенические нормативы фталатов в воздухе рабочей зоны (р.з.), атмосферном воздухе (а.в.)

Название вещества № CAS	ПДКр.з. мг/м ³ м.р./ с.с, кл. опасн.	Утв. № ГН	ПДК а.в. мг/м ³ м.р./с.с, кл. опасн.	Утв. № ГН
Диметилфталат 131-11-3	1/0,3, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №743	0,03 /0,007, рефл.- рез., 2 кл.	2.1.6.3492-17 №198
Диметилтерефталат 120-61-6	0,1, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №745	0,05 /0,01, рефл- рез., 2 кл	2.1.6.3492-17 №200
Диэтилфталат 84-66-2	1,5/0,5, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №1001	ОБУВ 0,01	2.1.6.2309-07 №603
Дибутилфталат 84-74-2	1,5/0,5, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №668	ОБУВ 0,1	2.1.6.2309-07 №396
Дипентилфталат 131-18-0	3/1, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №892	-	-
Дигексилфталат 84-75-3	3/1, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №674	ОБУВ 0,01	2.1.6.2309-07 №400
Дигептилфталат 53306-52-8	1, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №1004	-	-
Диалкил (С8-С10) фталаты	3/1, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №639	-	-
Диоктилфталат 117-81-7	1, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №327	-	-
Диоктилтерефталат 6422-86-2	3, п+а, 3 кл.	-	ОБУВ 0,1	2.1.6.2309-07 №606
Динонилфталат 84-76-4	3/1, п+а, 2 кл.	2.1.5.3532-18 №883	-	-

- наибольшую опасность фталаты представляют при длительном поступлении в организм;
- большинство фталатов оказывают негативное влияние на репродуктивную функцию животных и человека;
- для объективной оценки опасности производных фталевых кислот необходимо изучение токсического действия этих соединений в подостром и хроническом экспериментах;

- установление класса опасности фталатов на основе изучения лишь острой токсичности может привести к ошибочному заключению, с негативными последствиями для здоровья персонала и населения. Полученные данные определяют тактику проведения исследований при гигиеническом регламентировании фталатов в условиях производства и применения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Данишевский С.Л. Сложные эфиры. В кн.: Лазарев Н.В., ред. Вредные вещества в промышленности. Л.: Химия; 1971; т. 1: 480 – 482.
2. RTECS(R) National Institute for Occupational Safety and Health. Canadian Centre for Occupational Health Safety; 2005.
3. Шефтель В.О., Дышиневич Н.Е., Сова Р.Е. Токсикология полимерных материалов. Киев: Здоровье; 1988.
4. Heudorf U., Mersch-Sundermann V., Angerer J. Phthalates: toxicology and exposure. Int. J. Hygiene Environ Health. 2007; 210 (5): 623 – 634.
5. Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.3532 – 18. М.: РПОХБВ Минздрава России, 2018.
6. Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.2308-07. М.: Роспотребнадзор; 2008.
7. Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. Гигиенические нормативы ГН 2.1.6.2309-07. М.; 2008.
8. Барштейн Р.С., Кирилович В.И., Носовский Ю.Е. Пластификаторы для полимеров. М.: Химия; 1982.
9. Майстенко В.Н., Клыев Н.А. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. М.: Бином, Лаборатория знаний; 2012.
10. Починок А.П., ред. Энциклопедия по безопасности и гигиене труда. Т. 4. М.: М-во труда и соц. развития; 2001.
11. Санина Ю.П., Кочеткова Т.А. О токсичности диметилтерефталата. В кн.: Летавет А.А., ред. Токсикология новых промышленных веществ. М.: Медгиз; 1963: 107 – 22.
12. Bosnjir J., Puntaric D. Migration of phthalates from plastic containers into soft drinks and mineral waters. Food Technol. And Biotechnol. 2007; 145 (1): 91 – 95.
13. Woodward K.N. Phthalate Esters: Toxicity and Metabolism. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1988.
14. Hauser R. Phthalates and human health. Occup. And Environ Med. 2005; 62 (11): 806 – 18.
15. Lopez-Carrillo L., Hernandez-Ramirez R.U. Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico. Environ. Health Perspect. 2010;118 (4): 539 – 44.
16. Guo Y., Alomirah H., Cho H.-S. Occurrence of Phthalate metabolites in human urine from several Asian countries. Environ. Sci. and Technol. 2011; 45 (7): 3138 – 3144.
17. Halden Rolf U. Plastics and health risks. Annual Review of Public Health. 2010; 31: 179 – 94.
18. Kevy S.V., Jacobsen M.S. Hepatic effects of a phthalate ester plasticizer Leached from poly(vinyl chloride) blood bags following transfusion. Environ. Health Perspect. 1982; 45: 57– 64.
19. Mylchreest E., Cattley R.C. Male reproductive tract malformations in rats following gestational and lactational exposure to di(n-butyl) phthalate: an antiandrogenic mechanism? Toxicol. Science. 1998; 43: 47 – 60.
20. Mylchreest E., Wallace D.G. Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to di(n-butyl) phthalate during late gestation. Toxicological Sciences. 2000; 55: 143 – 51.
21. Коренева Е.М., Карпенко Н.А., Казак В.А. Экзогенные факторы гипофертильности. Компоненты пластмасс – фталаты. Репродуктивная эндокринология. 2011; 2: 62 – 67.
22. Lowekamp-Swan T., Davis B. J. Mechanisms of Phthalate ester toxicity in the female reproductive system. Environ Health Perspect. 2003; 111 (2): 139 – 145.
23. Алдырева М.В., Климова Т.С., Изюмова А.С., Тимофиевская Л.А. Влияние фталатных пластификаторов на генеративную функцию. Гигиена труда и проф. заболеваный. 1975; 12: 25 – 29.
24. Тимофиевская Л.А. Биологическое действие и токсичность эфиров о-фталевых кислоты. Москва: НИИТЭхим; 1981.
25. Klimisch H.J., Hellwig J., Kaufmann W. Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): Investigation of inhalation toxicity in rats after repeated exposure (28d). Human Exp. Toxicol. 1991; 10: 68.
26. Jaeger R.J., Rubin R.J. Extraction, localization and metabolism of di-2-ethylhexyl phthalate from PVC plastic medical devices. Environ. Health. 1973; 3: 95 – 102.
27. Rubin R., Chang J. Effect of the intravenous administration of the solubilized plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate on the lung and on survival of transfused rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1978; 45: 230.
28. Cimini A.M., Sulli A., Stefanini S., Serafini B., Moreno S., Rossi L. [et al.]. Effects of di(2-ethylhexyl)phthalate on peroxisomes of liver, kidney, and brain of lactating rats and their pups. Cell. Mol. Biol. 1994; 40: 1063 – 76.
29. David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate in rats. Toxicological Sciences. 2000; 55: 433 – 43.
30. David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate in mice. Toxicological Sciences. 2000; 58: 377 – 85.
31. Rao M.S., Yeldandi A.V., Subbarao V. Quantitative analysis of hepatocellular lesions induced by di(2-ethylhexyl)phthalate in F-344 rats. Toxicol. Environ. Health. 1990; 30: 85 – 89.
32. Daniel J.W., Bratt H. The absorption, metabolism and tissue distribution of di-(2-ethylhexyl)phthalate in rats. Toxicol. 1974; 2: 51 – 65.
33. Tyl R.W., Price C.J., Marr M.C., Kimmel C.A. Developmental toxicity evaluation of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate in Fischer 344 rats and CD-1 mice. Fundam. Appl. Toxicol. 1988; 10: 395 – 412.
34. Shaffer C.B., Carpenter C.P., Smyth H.J. Acute and subacute toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate with note upon its metabolism. Ind. Hyg. Toxicol. 1945; 27: 130 – 135.
35. Lake B.G., Gray T. J., Foster J. R., Stubberfield C. R., Gangolli S. D. Comparative studies on di-(2-ethylhexyl)phthalate-induced hepatic peroxisome proliferation in the rat and hamster. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1984b; 72: 46 – 60.
36. Bui T.T., Giovanoulis G., Cousins A.P., Magnér J., Cousins I.T., de Wit C.A. Human exposure, hazard and risk of alternative plasticizers to phthalate esters. Science of The Total Environment. 2016; 541: 451 – 67.
37. Kwon B., Kyunghee J. Estrogenic and Androgenic Potential of Phthalates and Their Alternatives. Korean Journal of Environmental Health Sciences. 2016; 42 (3): 169 – 88.

REFERENCES:

1. Danishevskiy S.L. Esters. In: Hazardous Substances in Industry. Leningrad: Khimiya; 1971; vol. 1: 480–482 (in Russian).
2. RTECS(R) National Institute for Occupational Safety and Health. Canadian Centre for Occupational Health Safety; 2005.
3. Sheftel V.O., Dyszynech N.E., Sová R.E. Toxicology of Polymer Materials. Kiev: Zdorov'e; 1988 (in Russian).
4. Heudorf U., Mersch-Sundermann V., Angerer J. Phthalates: toxicology and exposure. Int. J. Hygiene Environ Health. 2007; 210 (5): 623 – 634.
5. HS 2.2.5.3532-Maximum Allowable Concentration (MAC) of Pollutants in Workplace Air. – Moscow, 2018 (in Russian).
6. HS 2.2.5.2308-Tentative Safe Exposure Levels (TSEL) of Pollutants in Workplace Air. – Moscow; 2008 (in Russian).
7. HS 2.1.6.2309-Tentative Safe Exposure Levels (TSEL) of Pollutants in the Atmospheric Air of Populated Areas. – Moscow; 2008 (in Russian).
8. Barshstein R.S., Kirilovich V.I., Nosovskiy Yu.E. Plasticizers for Polymers. Moscow: Khimiya; 1982 (in Russian).
9. Maistenko V.N., Klyuev N.A. Ecological and Analytical Monitoring of Persistent Organic Pollutants. Moscow: Binom; 2012 (in Russian).
10. Encyclopedia of Occupational Safety and Health, Pochinok, A.P., ed. Moscow: Min. Truda Sots. Razvitiya, 2001, vol. 4 (in Russian).
11. Sanina Yu.P., Kochetkova T.A. On the Toxicity of Dimethyl Terephthalate. In: Toxicology of New Industrial Substances, Letavet AA, ed. Moscow: Medgiz; 1963: 107–22 (in Russian).
12. Bosnjir J., Puntaric D. Migration of phthalates from plastic containers into soft drinks and mineral waters. Food Technol. Biotechnol. 2007; 145 (1): 91– 95.
13. Woodward K.N. Phthalate Esters: Toxicity and Metabolism. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1988.
14. Hauser R. Phthalates and human health. Occup. Environ Med. 2005; 62 (11): 806 – 18.
15. Lopez-Carrillo L., Hernandez-Ramirez R.U. Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico. Environ. Health Perspect. 2010;118 (4): 539 – 44.
16. Guo Y., Alomirah H., Cho H.-S. Occurrence of Phthalate metabolites in human urine from several Asian countries. Environ. Sci. and Technol. 2011; 45 (7): 3138 – 3144.
17. Halden Rolf U. Plastics and health risks. Ann. Rev. Public Health. 2010; 31: 179 – 94.
18. Kevy S.V., Jacobsen M.S. Hepatic effects of a phthalate ester plasticizer Leached from poly(vinyl chloride) blood bags following transfusion. Environ. Health Perspect. 1982; 45: 57– 64.
19. Mylchreest E., Cattley R.C. Male reproductive tract malformations in rats following gestational and lactational exposure to di(n-butyl) phthalate: an antiandrogenic mechanism, Toxicol. Science. 1998; 43: 47 – 60.
20. Mylchreest E., Wallace D.G. Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to di(n-butyl) phthalate during late gestation. Tox. Sci. 2000; 55: 143 – 51.
21. Koreneva E.M., Karpenko N.A., Kazak V.A. Exogenous Factors of Hypofertility. Components of Plastics –Phthalates. Reprod. Endocrin., 2011; 2: 62–67.
22. Lowekamp-Swan T., Davis B. J. Mechanisms of Phthalate ester toxicity in the female reproductive system. Environ Health Perspect. 2003; 111 (2): 139 – 145.
23. Aldyreva M.V., Klimova T.S., Izumova A.S., Timofievskaya L.A. Effect of Phthalate Plasticizers on the Reproductive Function. Prof. Zdorov'e Prof. Zabolevaniya. 1975; 12: 25–29 (in Russian).
24. Timofievskaya L.A. Biological Effect and Toxicity of o-Phthalic Esters. Moscow: NIITEKhim; 1981 (in Russian).

25. Klimisch H.J., Hellwig J., Kaufmann W. Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): Investigation of inhalation toxicity in rats after repeated exposure (28d). *Human Exp. Toxicol.* 1991; 10: 68.
26. Jaeger R.J., Rubin R.J. Extraction, localization and metabolism of di-2-ethylhexyl phthalate from PVC plastic medical devices. *Environ. Health.* 1973; 3: 95 – 102.
27. Rubin R., Chang J. Effect of the intravenous administration of the solubilized plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate on the lung and on survival of transfused rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1978; 45: 230.
28. Cimini A.M., Sulli A., Stefanini S., Serafini B., Moreno S., Rossi L. [et al.]. Effects of di(2-ethylhexyl)phthalate on peroxisomes of liver, kidney, and brain of lactating rats and their pups. *Cell. Mol. Biol.* 1994; 40: 1063 – 76.
29. David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate in rats. *Toxicological Sciences.* 2000; 55: 433 – 43.
30. David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate in mice. *Toxicological Sciences.* 2000; 58: 377 – 85.
31. Rao M.S., Yeldandi A.V., Subbarao V. Quantitative analysis of hepatocellular lesions induced by di(2-ethylhexyl)phthalate in F-344 rats. *Toxicol. Environ. Health.* 1990; 30: 85 – 89.
32. Daniel J.W., Bratt H. The absorption, metabolism and tissue distribution of di-(2-ethylhexyl)phthalate in rats. *Toxicol.* 1974; 2: 51 – 65.
33. Tyl R.W., Price C.J., Marr M.C., Kimmel C.A. Developmental toxicity evaluation of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate in Fischer 344 rats and CD-1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1988; 10: 395 – 412.
34. Shaffer C.B., Carpenter C.P., Smyth H.J. Acute and subacute toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate with note upon its metabolism. *Ind. Hyg. Toxicol.* 1945; 27: 130 – 135.
35. Lake B.G., Gray T. J., Foster J. R., Stubberfield C. R., Gangolli S. D. Comparative studies on di-(2-ethylhexyl)phthalate-induced hepatic peroxisome proliferation in the rat and hamster. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1984b; 72: 46 – 60.
36. Bui T.T., Giovanoulis G., Cousins A.P., Magnér J., Cousins I.T., de Wit C.A. Human exposure, hazard and risk of alternative plasticizers to phthalate esters. *Science of The Total Environment.* 2016; 541: 451 – 67.
37. Kwon B., Kyunghye J. Estrogenic and Androgenic Potential of Phthalates and Their Alternatives. *Korean Journal of Environmental Health Sciences.* 2016; 42 (3): 169 – 88.

I.E. Shkaeva, S.A. Solntseva, O.S. Nikulina, A.I. Nikolaev, S.A. Dulov, A.V. Zemlyanoy

TOXICITY AND HAZARD OF PHTHALATES (Literature review)

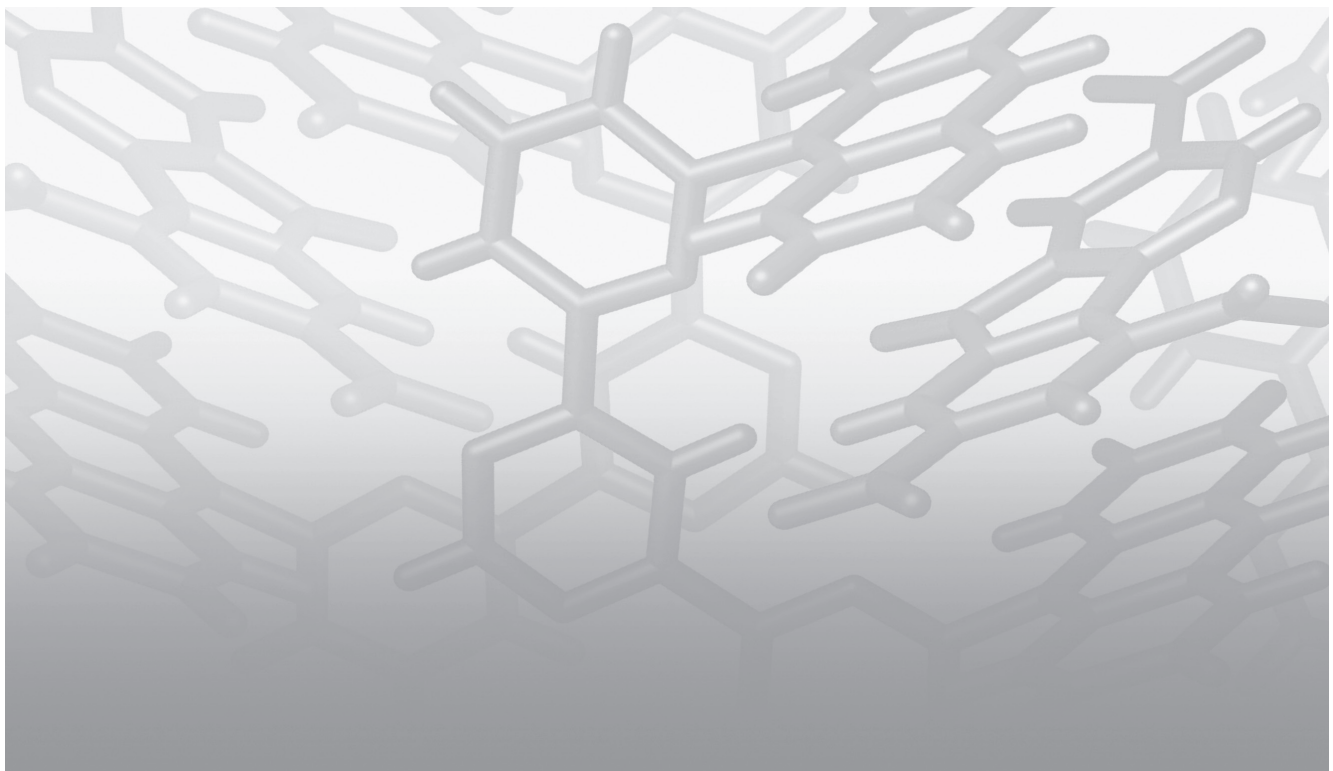
Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663, Saint Petersburg, Russian Federation

The analysis of literature data on toxicity and hazard of phthalic acid derivatives is carried out. It is shown that phthalates are widely used in various industries as plasticizers. With a single intake, phthalates, as a rule, are low-toxic and low-hazard substances. Repeated exposure to these compounds leads to their accumulation in the body, having a polytropic effect with damage to the liver, kidneys, lungs, as well as embryotoxic and gonadotoxic effect.

It is shown that the studied phthalates are dangerous for workers exposed to aerosols in the air of industrial premises. Based on the results of the analysis and summary of the literature, the following main conclusions are made. For an objective assessment of the danger of phthalic acid derivatives it is necessary to study the toxic effect of these compounds in subacute and chronic experiments. Establishing a hazard class for phthalates based only on the study of acute toxicity can lead to wrong conclusions with negative consequences for the health and lives of staff and the public.

Keywords: *phthalates, toxicity, hazard.*

Материал поступил в редакцию 20.05.2019 г.



УДК 577.352.2 : 661.162.6

МОДЕЛЬНЫЕ БИОМЕМБРАНЫ КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИОННОГО ДИАПАЗОНА ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, НЕ ВЫЗЫВАЮЩЕГО ДЕСТРУКЦИЮ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

О.М. Алексеева¹,
А.В. Кременцова¹,
А.В. Кривандин¹,
О.В. Шаталова¹, Ю.А. Ким²

¹ФГБУН Институт биохимической физики
РАН им. Н.М. Эммануэля, 119334,
г. Москва, Российская Федерация

²ФГБУН Институт биофизики
клетки Российской академии наук,
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский
центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований
Российской академии наук», 142290,
г. Пушкино, Московская область,
Российская Федерация

В работе представлены данные по изменениям модельных биомембран (липосомы, тени эритроцитов, эритроциты), используемых, как тест-объекты, для определения тех областей концентраций биологически активных веществ, в которых не происходит нарушения структуры или функции экспериментальных объектов. В качестве биологически активных веществ отобрали синтетические: регулятор роста растений - мелафен, применяемый в малых дозах в предпосевной обработке семян и производные антиоксиданта – фенозана, феноксан и ИХФАНЫ. Показали методом ДСК, что производные фенозана в концентрациях равных 10^{-5} М и более, разрушают микродоменную организацию в бислоях фосфолипидных мультиламеллярных липосом и переформируют белковые микродомены в тенях эритроцитов. Мелафен в малых и больших концентрациях полимодально изменяет микродоменную организацию в бислоях фосфолипидных мультиламеллярных липосом, не разрушая структуру, и не влияет на белковые микродомены в тенях. Спектральным анализом выявили увеличение проницаемости мембран в изолированных целых эритроцитах при действии мелафена в больших и малых концентрациях. Методом малоуглового дифракционного рассеяния показали отсутствие влияния мелафена в широком диапазоне концентраций на толщину фосфолипидных бислоев и порядок их упаковки в мультиламеллярных липосомах.

Ключевые слова: фосфолипиды, мультиламеллярные липосомы, биологически активные вещества, тени эритроцитов, эритроциты, ДСК, малоугловое дифракционное рассеяние.

Список сокращений: биологически активные вещества – БАВ; Фенол-Завод-Академия-Наук – фенозан; Институт-Химической-Физики-Академии-Наук – ИХФАН; димиристоилфосфатидилхолин – ДМФХ; дифференциальная сканирующая микрокалориметрия – ДСК; МУРР – малоугловое рентгеновское рассеяние; электронно-парамагнитный резонанс – ЭПР; атомно силовая

микроскопия – АСМ; динамическое светорассеяние – ДСР; перекисное окисление липидов – ПОЛ.

Введение. Необходимость определения концентрационных ограничений при применении биологически активных веществ (БАВ) вызвана тем, что использование в «терапевтических» концентрациях, обычно миллимолярных и более, вызывает и побочные эффекты. Отслеживание

Алексеева Ольга Михайловна (Alekseeva Olga Michailovna), старший научный сотрудник ФГБУН Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, olgavek@yandex.ru

Кременцова Анна Владимировна (Krementsova Anna Vladimirovna), кандидат физ. мат. наук старший научный сотрудник ФГБУН Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, akrementsova@mail.ru

Кривандин Алексей Владимирович (Krivandin Aleksey Vladimirovich), кандидат физ. мат. наук, ведущий научный сотрудник, руководитель Центра рентгенодифракционного анализа ФГБУН Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, a.krivandin@sky.chph.ras.ru

Шаталова Ольга Владимировна (Shatalova Olga Vladimirovna), научный сотрудник Центра рентгенодифракционного анализа ФГБУН Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, Shatalova@sky.chph.ras.ru

Ким Юрий Александрович (Kim Yuri Alexandrovich), доктор физ. мат. наук, ведущий научный сотрудник Института биофизики клетки РАН, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

на клеточном и субклеточном уровне мишеней и механизмов действия БАВ может позволить предупредить негативное влияние. На примере синтетических БАВ: регулятора роста растений гидрофильного мелафена [1] и производных антиоксиданта фенозана: его калиевой соли – гидрофильного феноксана, и гидрофобизованных ИХФАНов [2,3], было исследовано действие БАВ в широком диапазоне концентраций (разведений) на структуру и функции модельных и биологических экспериментальных объектов разного уровня организации.

В качестве первых наиболее простых липидных модельных мембранных объектов использовались фосфолипидные мультиламеллярные липосомы [4]. Устойчивые липосомы в виде взвеси в фосфатном буфере были сформированы или из синтетического индивидуального фосфолипида димиристоилфосфатидилхолина (ДМФХ), или из смеси природных фосфолипидов – яичного лецитина. Мультиламеллярные липосомы формировали с единообразным фосфолипидным составом для того, чтобы исследовать методом ДСК влияние БАВ на структурном уровне микродоменов в бислое. Тестирование влияния БАВ на следующем структурном уровне – организации упаковки бислоев в многослойной липосоме и толщинах этих бислоев, проводили методом МУРР во взвеси мультиламеллярных липосом, состоящих из упорядоченной смеси природных фосфолипидов. Схематическая структура фосфолипидных мультиламеллярных липосом показана на рисунке 1. Как модель мультиламеллярные липосомы отражают многослойное строение или взаимное расположение внутриклеточных органелл (митохондрий, аппарата Гольджи, ядерной оболочки, эндоплазматического ретикулума, плазмалеммы).

Необходимо отметить, что, так как в исследовании использовались БАВ разной природы: гидрофобные ИХФАНы и гидрофильные феноксан и мелафен, то мы обосновали насыщение всей структуры мультиламеллярной липосомы этими веществами, основываясь на работах Антонова В.Ф. с соавторами [5], в которых было показано образование нанопор при определенных структурных состояниях бислоя.

По данным электронной микроскопии и ДСК известно, что в фосфолипидном бислое, состоящем только из ДМФХ, во временном и температурном промежутке между эндотермическими фазовыми переходами: предпереходом и основным фазовым переходом, существует риппл-фаза [6]. Предпереход – это неярко выраженный одиночный пик на кривых плавления в области 14-15°C, при котором происходит перестройка упорядоченной упаковки фосфолипидов в гель-фазе в риппл-фазу (рифленую фазу).

При повышении температуры до 24,3°C достигается основной фазовый переход ДМФХ – это одиночный пик с большой амплитудой, отражающий кооперативную перестройку в менее упорядоченное состояние – фазу жидкого кристалла. Методом электронной микроскопии риппл-фазу наблюдали для ДМФХ и ДПФХ (дипальмитоилфосфатидилхолина) с характерным для каждого вида липидов периодом волнистости. Периодичность волнистости и ее амплитуда меняется в зависимости от факторов, влияющих на бислои [6]. С точки зрения воздействия БАВ на мембраны риппл-фаза представляет большой интерес, т.к. в этот период сосуществуют фосфолипидные микродомены, находящиеся в состоянии гель-фазы и микродомены – в состоянии жидкого кристалла. Это и обуславливает рифленую картину при электронной микроскопии. На стыке между микродоменами образуются короткоживущие гидрофильные наноразмерные поры [5], через которые гидрофильное вещество проникает ко всем внутренним липосомам, составляющим мультиламеллярную липосому (рис. 1). Гидрофобные вещества накапливаются в гидрофобных областях бислоев. Поэтому влияние БАВ на липидный бислой в настоящей работе тестировали методом ДСК по изменениям параметров пика основного фазового перехода ДМФХ.

В максимуме основного фазового перехода при 24,3°C, по площади пика определяется теплоемкость эндотермического пика, на полувысоте пика определяется полуширина – величина, обратная кооперативности перехода. В присутствии БАВ максимум перехода может сдвигаться по температурной шкале, что свидетельствует о влиянии БАВ на бислои, также и другие параметры могут быть изменены. Экспериментальный объект и ДСК метод в случае тестирования ДМФХ липосом – это адекватная модель для исследования действия БАВ на липидную составляющую биомембран. БАВ могут оказывать существенное влияние на липидный бислой, изменяя параметры фазовых переходов липидов, что указывает на локализацию БАВ в бислое, и позволяет предположить механизмы взаимодействия с липидами. Плавление бислоя в нашей работе происходит при физиологических температурах.

Итак, во время риппл-фазы происходит нарушение регулярности структуры (нарушение дальнего порядка) – одновременно с микродоменами, находящимися в состоянии жидкого кристалла, имеются и микродомены в состоянии гель-фазы. Между этими разнородными микродоменами образуются короткоживущие нанопоры с гидрофильными каналами [5]. В результате малые гидрофильные молекулы проникают во все внутренние водные прослойки мультиламеллярной липосомы и могут ока-

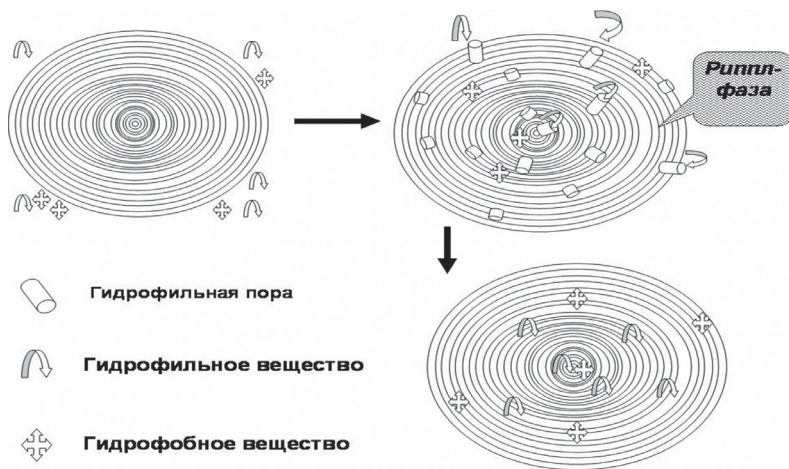


Рис. 1. Схема строения мультимеллярных липосом, сформированных из фосфолипидов. Во время «рипл-фазы» образуются наноразмерные гидрофильные поры [5], и гидрофильные БАВ проникают к поверхности всех бислоевных липосом в составе мультимеллярных липосом. Гидрофобные БАВ насыщают бислои, встраиваясь среди фосфолипидов.

зывать на бислои поверхностное влияние. Гидрофобные вещества насыщают гидрофобные области каждого бислоя. В результате БАВ, действуя снаружи бислоев и внутри, изменяют параметры во всей многослойной липосоме. По ДСК параметрам кривых плавления индивидуального фосфолипида с ярко выраженным пиком основного фазового перехода при воздействии БАВ, добавленного в разных концентрациях, четко выявляется доза-зависимая способность вещества встраиваться в фосфолипидный бислой или же действовать с поверхности бислоя. При определенных концентрациях либо разрушается микродоменная структура бислоя, либо укрепляется для противодействия различным факторам внешней среды.

Исследования влияния БАВ на липидные бислои проводятся уже достаточно давно. Актуальность таких исследований обосновал Харакоз Д.П. [7]. В этой работе рассматривалась возможная физиологическая роль фазового перехода «жидкое-твёрдое» в биологических мембранах. По-видимому, сдвиг температуры тела животного при гибернации или обычном сне вызывает перестройки микродоменов в бислоевных мембранах, что способствует упорядочиванию состава и структуры биомембран. Задача многочисленных работ по исследованию влияния БАВ на биомембраны состоит в выявлении возможностей регуляции фазового перехода «жидкое-твёрдое». В мембране, находящейся в состоянии жидкого кристалла, ее белковые компоненты (ионные каналы, ионные обменники, ионные насосы, рецепторы, ферменты) конформационно подвижны, и их функции могут быть активиро-

ваны. При твердом состоянии мембранные функции белков угнетены. Необходимо отметить, что термограммы фазового перехода в мембранах, состоящих из единственного фосфолипида, имеют четко выраженные предпереход и основной переход. Поэтому достаточно просто определять воздействие БАВ на термоиндуцированные параметры липидного бислоя. Методом ДСК в мультимеллярных фосфолипидных липосомах отслеживают влияние БАВ разной природы на организацию и перестройки микродоменов.

Для тестирования методом МУРР следующего организационного уровня экспериментальных объектов были использованы липосомы, содержащие смесь фосфолипидов. В состав мультимеллярных липосом, сформированных из яичного лецитина, входят природные фосфолипиды:

фосфодитилхолин, фосфатидилэтанолламин и в малых количествах фосфатидилинозитол и сфинголипиды. Их молекулы различны по строению и составу. Они содержат полярные группы: холин, этаноламин, инозит, а также жирнокислотные остатки разной величины и степени насыщенности. С точки зрения адекватности модели отметим, что такие фосфолипиды имеются практически во всех мембранах клеток животного происхождения. Необходимо отметить, что именно наличие заряда, длина молекул и их насыщенность позволяет образовывать мозаичную мембрану. Это играет основную роль в стабилизации клеточных мембран, их структурной целостности и обеспечении функционирования мембранных компонентов. В клетках молекулы, составляя бислои, взаимно располагаются соответственно своим стереоспецифическим характеристикам, осуществляя белок-липидные взаимодействия. Так, для активной работы интегрированных и ассоциированных мембранных белков: рецепторов, каналов, ионных обменников, насосов и ферментов, необходим определенный состав липидного окружения этих белковых структур.

Температуры плавления природных фосфолипидов в сложной смеси в значительной степени перекрываются, выделить отдельные индивидуальные пики можно только с помощью математических методов, что может и не отражать реального структурного состояния микродоменов. Домены могут быть смешанными по составу. БАВ, встраиваясь или разрушая, будут влиять на состав микродоменов. При плавлении из-за разной стереоспецифичности липиды проявля-

ют разную способность к латеральной диффузии и «флип-флоп»-перескокам в листках бислоев [8,9].

Картина термограмм при ДСК плавлении получится сложная, и количественная обработка и интерпретация будут затруднены. Поэтому нами был использован один из методов рентгенодифракционного анализа – малоугловое рентгеновское рассеяние МУРР [10]. Этот метод позволяет, проведя анализ измеренной интенсивности малоуглового рентгеновского рассеяния суспензией многослойных липосом, получить информацию о пространственной структуре липидных мембран и характере их взаимного расположения (укладке) в мультиламеллярных липосомах. Есть возможность определить механизм влияния БАВ по разрыхлению и уширению бислоев или уплотнению и сужению толщин бислоев, а также изменению пространства между бислоями. Это важно, т.к. в процессе жизнедеятельности клеток происходит слияние мембран, образование перемычек, разрыв и расхождение мембран [6]. Соответственно БАВ могут выступать в роли регуляторов этих процессов.

Для тестирования влияния БАВ на белок-липидные взаимодействия были использованы модели биомембран на следующем организационном уровне – тени эритроцитов. Это замкнутые оболочки эритроцитов, лишенные гемоглобина, но содержащие весь цитоскелет [11-13]. Если модели мультиламеллярных фосфолипидных липосом имитируют структуры клеточных органелл, то тени эритроцитов отражают основные элементы клетки – оболочку и цитоскелет. Для тестирования влияния БАВ на такой модели также применили метод ДСК, но с другими параметрами. Кривые эндотермических термограмм при прогревании взвеси теней эритроцитов показывают характеристики термоиндуцированной денатурации всех белковых микродоменов. Отражается влияние БАВ на перестройку ионных каналов, их компонентов и структурных белков. БАВ либо усиливают устойчивость к денатурации, либо ослабляют. В работах Акоев V.R. с соавторами [14] были обнаружены перестройки в белковых микродоменах теней эритроцитов человека при оксидативном стрессе, характерном для многих патологий. По-видимому, ДСК тестирование мембран и цитоскелета эритроцитов может помочь в диагностике.

Следующую ступень усложнения организации экспериментального объекта обеспечили изолированные клетки. Моделью были целые, полученные из кровяного русла, эритроциты. Ранее в работах Генделя Л.Я. с соавторами [15] было показано, что под влиянием синтетического антиоксиданта фенозана происходят изменения поверхностной архитектоники эритроцитов.

При этом антиоксидант встраивается преимущественно в верхний листок бислоя и меняет морфологию эритроцитов. В работах Бурлаковой Е.Б. с соавторами [16] подтверждено не только воздействие фенозана на структурные свойства – микровязкость мембран, но и влияние на биохимические свойства ферментов. В настоящей работе, учитывая эти данные по модификации мембраны, провели исследование влияния БАВ на целостность мембраны эритроцитов. Ее оценивали по проницаемости мембраны, характеризующейся степенью утечки гемоглобина из эритроцитов [17].

В настоящей работе все исследования воздействий биологически активных веществ: мелафена и производных фенозана, проводились в широком диапазоне концентраций. Такой подход к исследованиям был обусловлен тем, что необходимость исследований малых доз (концентраций или разведений, если нельзя точно определить) достаточно актуальна. Известно, что гидрофобные вещества, добавленные к экспериментальным объектам в малых концентрациях, накапливаются в гидрофобных областях мембран и в гидрофобных карманах белков до средних и больших концентраций. Во многих случаях БАВ не выводятся из организма, и далее могут возникать побочные эффекты. Гидрофильные БАВ также могут накапливаться в гидратных областях. Кроме того, происходит метаболизм или катаболизм БАВ в организме животных. В работах Прокопова А.А. и соавторов [18] при изучении метаболизма адаптогена фенозан-кислоты в организме кроликов обнаружено, что фенозан расщепляется на 2 метаболита, обладающих большей гепатопротекторной способностью, чем исходное вещество. Как показано в работах Бурлаковой Е.Б. с соавторами [19] репарация повреждений, нанесенных малыми дозами, как БАВ, так и радиации, может не активироваться, что представляет дальнейшую опасность. В итоге на основании перечисленных выше обоснований использования экспериментальных моделей, и тестирования влияния биологически активных веществ указанными методами *целью настоящей работы* явилось определение концентрационных границ для применения указанных биологически активных веществ без деструкции биологических объектов.

Материалы и исследования. ДМФХ – димристорилфосфатидилхолин, яичный лецитин (Sigma); NaCl, KCl, KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , (Sigma); мелафен – меламинавая соль бис (оксиметил) фосфиновой кислоты, синтезирован в ИОФХ РАН им. А.Е. Арбузова; феноксан – калиевая соль фенозана – β -(4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилфенил) пропионовая кислота, синтезирована в ИХФ РАН им. Н.Н. Семенова; ИХФАНы – сложноэ-

фирные производные (метилокса) (3,5 ди-трет-бутил-4-гидроксифенилпропановой кислоты) и этаноламина (коламина), замещенного алкильными заместителями с разной длиной цепи 8; 10; 12; 16 углеродных атомов, синтезированы в ИБХФ РАН им. Н.М. Эмануэля.

Приготовление многослойных везикул. Для приготовления водной дисперсии многослойных везикул из ДМФХ (0,2-0,3 мМ) использовали фосфолипид и хлороформ без дополнительной очистки согласно методу, предложенному McMullen T.P.W. [20]. Для получения липосом ДМФХ растворяли в хлороформе 1 мг/мл, под аргоном высушивали до состояния тонкой пленки на стенках колбы. На 12 часов для полного удаления растворителя колбу помещали под вакуум. Затем добавляли 10 мМ фосфатный буфер рН 7,4 и 60 мин нагревали на водяной бане при температуре выше фазового перехода (45-50° С), и 30 мин при комнатной температуре гидратировали на шейкере. По данным электронной микроскопии полученные липосомы имеют мультиламеллярную структуру и достигают размеров до 2000 Å [4].

Приготовление водных растворов и суспензий биологически активных веществ. Водные растворы БАВ: мелафена или феноксана, в широком диапазоне концентраций (10^{-17} - 10^{-2} М) pripravляли методом последовательных разбавлений с интенсивным перемешиванием с помощью вортекса. Суспензии ИХФАНов приготовили также методом последовательных разбавлений с интенсивным перемешиванием с помощью вортекса. Исходный концентрированный раствор ИХФАНов готовили в этаноле. Перед измерениями раствор БАВ добавляли в образец сравнения, содержащий фосфатный буфер, образец вносили в контрольную ячейку. Для приготовления экспериментального образца раствор БАВ добавляли в приготовленную дисперсию ДМФХ до необходимого молярного соотношения. Затем образец вносили в ячейку для измерения.

Получение эритроцитов и теней эритроцитов проводилось по методам дифференциального центрифугирования с соблюдением температурного режима [11-15].

Измерение выхода гемоглобина проводилось спектрофотометрическим методом [21].

Микрокалориметрическое исследование. Температурная зависимость избыточного удельного теплопоглощения экспериментальных модельных объектов отражалась в виде кинетической кривой – термограммы. Термограммы водных дисперсий многослойных везикул, сформированных из ДМФХ, регистрировали на дифференциальном адиабатном сканирующем микрокалориметре ДАСМ-4 (Специальное Конструкторское Бюро АН СССР, г. Пушино). Устройство, принцип работы и основные характеристики ДАСМ-4

описаны в работах Privalov P.L., Plotnikov V.V. [22]. Измерительная и сравнительная ячейки выполнены из платины и имеют объем 0,47 мл. Все измерения проведены в фосфатном буфере при скорости прогрева 1 град/мин. При модификации ДСК метода скорости прогрева составляли 0,125 град/мин; 0,25 град/мин; 0,5 град/мин; 1 град/мин. Уровень шума не превышал 30 мДж/К, воспроизводимость базовой линии 160 мДж/К.

Температурную зависимость избыточного молярного теплопоглощения (термограммы) каждого образца водной суспензии многослойных везикул, сформированных из ДМФХ в смеси с БАВ регистрировали в режиме цикла не менее трех раз. Аналогично проводили регистрацию термоиндуцированной денатурации белковых микродоменов в суспензии теней эритроцитов. Мелафен и феноксан добавляли к теням, ИХФАН-10 добавляли в процессе получения препарата теней из эритроцитов.

Анализ термограмм проводили с помощью программного пакета MicroCal Origin 5 («Microcal Software», Northampton, MA). Относительную удельную энтальпию мембран (DHcal) определяли после вычитания базовой линии путем сравнения нормированной на концентрацию мембран площади под термограммой образца (от 10° до 90°С) с площадью электрической калибровочной метки прибора. Для получения базовой линии обе ячейки (измерительную и сравнительную) заполняли раствором, в котором в дальнейшем проводили измерение мембран, и проводили запись. Относительную интенсивность перехода определяли как величину удельной теплоемкости (DCrmax) в максимуме пика теплопоглощения при соответствующей температуре максимума (Tmax). Относительную молярную энтальпию фазовых переходов многослойных везикул из ДМФХ и теней эритроцитов (DH), интенсивность переходов (DCrmax), температуру максимумов (Tmax) и полуширины (DT1/2) переходов определяли, по методу Акоева В.Р. [14].

Рентгеновское дифракционное исследование липосом проводили на автоматизированном рентгеновском малоугловом дифрактометре с линейным координатным детектором, изготовленном на основе конструкции малоуглового рентгеновского дифрактометра АМУР-К (Институт кристаллографии РАН) [23]. Дифрактограммы регистрировали при комнатной температуре (21-22°С). Дисперсию липосом помещали в тонкостенный стеклянный капилляр. Источником рентгеновского излучения служила трубка БСВ29Cu с Ni-фильтром. Рентгеновский пучок фокусировался стеклянным зеркалом по схеме Франка и коллимировался при помощи щелей. Для учета вклада фонового рассеяния измеряли рассеяние капилляром с буфером без липосом. Для капилляра с дисперсией липосом и для ка-

пилляра с буфером были измерены коэффициенты поглощения рентгеновского излучения. Эти коэффициенты в пределах точности эксперимента имели одинаковые значения. Для определения «чистого» рассеяния липосомами из экспериментальных интенсивностей рассеяния капилляром с дисперсией липосом вычитали интенсивность рассеяния капилляром с буфером. Затем вводили коллимационную поправку на высоту рентгеновского пучка и ширину приемного окна детектора. Дифрактограммы представляли в виде функций от модуля дифракционного вектора $S = (2\sin\theta)/\lambda$, где λ – длина волны рентгеновского излучения (0.154 нм для $\text{CuK}\alpha$), θ – половина угла рассеяния. Период повторяемости мембран в липосомах D определяли по формуле Вульфа-Брэгга $D = \lambda/(2\sin\theta_{max})$, где θ_{max} – половина угла рассеяния, соответствующего положению первого дифракционного максимума.

Профиль электронной плотности мембран $\rho(x)$ в направлении перпендикулярном плоскости мембран рассчитывали преобразованием Фурье по интегральным интенсивностям дифракционных максимумов на дифрактограммах липосом (после введения коллимационной поправки) по

$$\rho(x) = \sum_{h=1}^N S(h)h\sqrt{I(h)} \cos\left(\frac{2\pi hx}{D}\right), \quad (1)$$

где h – номер дифракционного максимума, $S(h)$ и $I(h)$ – фазовый знак (+ или –) и интегральная интенсивность дифракционного максимума с номером h , N – число дифракционных максимумов. Множитель h в формуле (1) является поправкой в интенсивность дифракционных максимумов, связанной с разориентацией мембран в дисперсии липосом (фактор Лоренца) [10]. Дифрактограммы каждого образца водной суспензии многослойных везикул, сформированных из яичного лецитина с добавлением БАВ, регистрировали не менее трех раз.

Результаты и обсуждение. На основании перечисленных во введении предпосылок были выполнены исследования воздействия БАВ – мелафена и производных фенозана, на модельные биообъекты животного происхождения. Экспериментальные объекты можно расположить в ряд по степени усложнения структуры: мультиламеллярные фосфолипидные липосомы, сформированные из индивидуального синтетического фосфолипида – ДМФХ; мультиламеллярные фосфолипидные липосомы, сформированные из смеси природных фосфолипидов – яичного лецитина; тени эритроцитов; эритроциты. Для выяснения границ концентрационных диапазонов для БАВ, в которых применение не вызывает разрушения структуры экспериментальные объекты, тестирование проводили используя широкий

концентрационный диапазон этих экзогенных веществ.

Исследование воздействия БАВ – мелафена и производных фенозана, на мембраны с использованием первой модели – мультиламеллярных липосом, сформированных из ДМФХ. Изменение термоиндуцированных параметров фосфолипидных мультиламеллярных липосом при действии БАВ отражается на термограммах плавления ДМФХ. В зависимости от концентрации применяемого вещества может выявляться сдвиг по температуре максимума основного эндотермического фазового перехода, изменяться амплитуда пика и происходить его уширение или сужение.

При регистрации ДСК термограмм плавления ДМФХ в присутствии мелафена в большой концентрации 10^{-5} М было обнаружено, что пик основного эндотермического фазового перехода остается единственным, по сравнению с контрольной термограммой добавочных пиков не появляется (рис. 2). Это указывает на то, что все бислои в многослойной липосоме претерпели изменения, и мелафен проник ко всем слоям мультиламеллярных липосом. Однако параметры термоиндуцированных основных переходов практически не различаются. Возможно, что мелафен в использованной концентрации не оказал влияния на микродоменную организацию бислоев ДМФХ.

Для выявления вероятного воздействия мелафена на структуру ДМФХ фосфолипидных

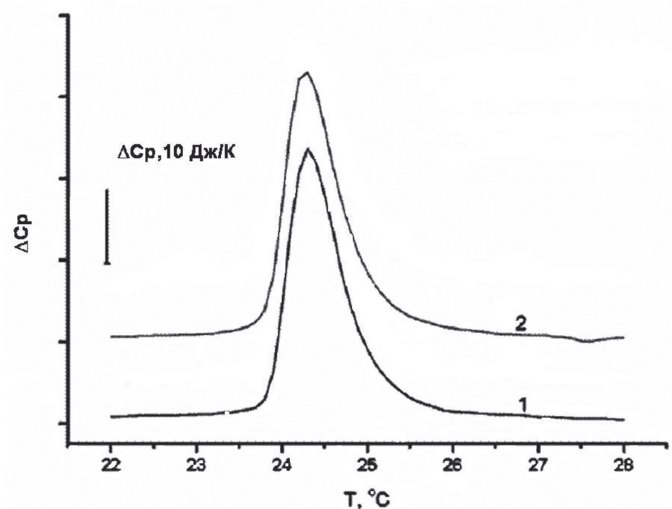


Рис. 2. Влияние мелафена на структуру фосфолипидных мембран в мультиламеллярных липосомах. Термограммы плавления ДМФХ мультиламеллярных липосом. Основной термоиндуцированный эндотермический фазовый переход. Обозначения: 1 – контроль, 2 – 10^{-5} М. Все измерения проведены в фосфатном буфере при скорости прогрева 1 град/мин.

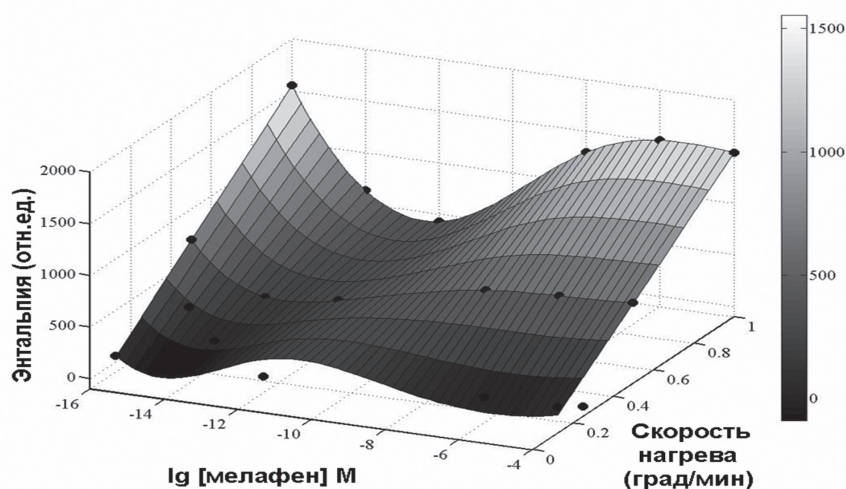


Рис. 3. Влияние мелафена на структуру фосфолипидных микродоменов в мультиламеллярных липосомах. Энтальпия индуцированного основного перехода ДМФХ при разных скоростях прогрева ячеек с образцами. При модификации ДСК метода скорости прогрева 0,125 град/мин; 0,25 град/мин; 0,5 град/мин; 1 град/мин.

мембран в мультиламеллярных липосом была применена модификация ДСК метода. Помимо стандартного измерения в фосфатном буфере при скорости прогрева 1 град/мин были проведены измерения при разных скоростях плавления. При этом скорости прогрева ячеек с контрольным и опытными образцами составляли 0,125 град/мин; 0,25 град/мин; 0,5 град/мин; 1 град/мин. Таким образом, устойчивую структуру бислоев можно вывести из состояния равновесия. Снижение скорости подачи тепла к ячейкам с контрольным и опытным образцами значительно меняет параметры основного термоиндуцированного фазового перехода ДМФХ. По-видимому, релаксационные процессы в этом случае происходят по-разному. Действительно, и в контрольных образцах суспензий ДМФХ в буферном растворе в отсутствие БАВ были отмечены изменения. При уменьшении скорости подачи тепла к ячейкам значительно снижается энтальпия, незначительно – температура фазового перехода, кооперативность незначительно увеличивается.

Изменив параметры плавления, мы выявили, что поверхностное воздействие мелафена меняет термоиндуцированные параметры бислоев ДМФХ. В этом случае измерения провели, применяя разведения мелафена в широком диапазоне концентраций от 10^{-4} М до 10^{-16} М. Отметим, что при добавлении к ДМФХ – липосомам раствора мелафена во всем диапазоне концентраций во всех зарегистрированных термограммах выявлялся единственный пик основного термоиндуцированного перехода. Таким образом, можно считать, что мелафен проник ко всем бислоям в мульти-

лойной липосоме и поверхностно промодифицировал бислои. Эти данные представлены на результирующем графике зависимости энтальпии основного термоиндуцированного перехода ДМФХ от концентрации добавленного раствора мелафена и скоростей прогрева экспериментальных ячеек ДАСМ-4 (рис. 3). Помимо энтальпии таким же изменениям подверглась кооперативность основного фазового перехода. Произошли сдвиги максимума температуры основного фазового перехода. На графиках зависимостей термодинамических параметров плавления ДМФХ от концентрации мелафена при всех исследованных скоростях плавления наблюдались экстремумы в области концентраций мелафена 10^{-14} – 10^{-8} М. В настоящей работе исследования проводились на моделях, имитирующих мембраны животного происхождения, как раз эти концентрации являются действующими для стимуляции развития и роста растительных организмов [24].

Так же для исследования влияния на структуру фосфолипидных микродоменов в мультиламеллярных липосомах применили другое экзогенное синтетическое вещество – феноксан. Это гидрофильное производное антиоксиданта фенозана – калиевая соль фенозан-кислоты. В работах Кривандина А.В. и соавторов [23] методом МУРР было показано, что большие (процентные) концентрации фенозана и феноксана разрушают регулярную структуру липидной мембраны: изменяется ширина бислоя и нарушается порядок упаковки бислоев в мультиламеллярных липосомах, сформированных из природных липидов.

В настоящей работе методом ДСК протестировали воздействие водных растворов в широком

диапазоне концентраций феноксана на структуру мембраны, сформированной из ДМФХ. Это другой организационный уровень – влияние на микродомены в бислоях. Как и в случае с мелафеном, также выявляется только единственный эндотермический пик основного фазового перехода, что указывает на то, что на все бислои, входящие в состав многослойной мультиламеллярной липосомы, действует феноксан. Было обнаружено, что высокие концентрации феноксана, в отличие от мелафена, деструктурируют бислои, нарушая его микродоменную структуру. На это указывает исчезновение пика основного эндотермического фазового перехода. При добавлении водного раствора феноксана в концентрации 10^{-4} М пик основного эндотермического перехода ДМФХ значительно уменьшается. При более высокой концентрации мелафена пик не выявляется, и энтальпия не высчитывается, что отражено в таблице 1.

Соответственно можно говорить о том, что если фенозан-кислота значительно разрушает структуру фосфолипидных мембран, то ее гидрофильное производное феноксан деструктивно влияет только в больших концентрациях – более 10^{-4} М.

Разрушение микродоменной структуры мембраны, сформированной из ДМФХ, происходит и при тестировании воздействий других производных фенозана – гибридных антиоксидантов ИХФАНов. Это сложные молекулы, имеющие

полярную часть с зарядом на атоме азота и гидрофобные алкильные остатки, разной длины. Соответственно, заряженная часть молекул располагается в гидратной оболочке, находящейся вокруг липосом, а гидрофобные остатки внедряются в бислой и располагаются среди жирнокислотных хвостов фосфолипидов. В настоящей работе применяли эмульсию ИХФАНов в среде этанол – вода. Использовали также поэтапное разведение для получения меньших концентраций. Полученные данные представлены на рисунке 4. При концентрации феноксана 10^{-3} М и ИХФАНов в концентрации 10^{-5} М термоиндуцированный переход ДМФХ не выявляется, по-видимому, периодическая структура мембраны липосом значительно нарушается, что согласуется с литературными данными, полученными для больших концентраций фенозана и феноксана [23]. Видно, что ИХФАНы в концентрации 10^{-5} – 10^{-6} М значительно деструктурируют ДМФХ – бислои, пик основного фазового перехода практически исчезает по сравнению с контролем. ИХФАН с самым длинным алкильным остатком формирует собственный пик перехода в бислое. Можно сделать вывод, что гибридные антиоксиданты группы ИХФАНов могут применяться только в малых концентрациях.

Это согласуется и с данными Кривандина А.В. с соавторами [25], полученными по методу МУРР, из которых следует, что ИХФАН-10 значительно меняет толщины бислоев и порядок их упаковки

Таблица 1

Влияние феноксана на термоиндуцированные параметры мембран в фосфолипидных мультиламеллярных липосомах, сформированных из ДМФХ. Все измерения проведены в фосфатном буфере при скорости прогрева 1 град/мин.

Концентрация феноксана (М)	Энтальпия ДМФХ (отн. ед.)	Температура максимума перехода ДМФХ (°С)	Кооперативность (отн.ед.) $n \frac{1}{2}$ ДМФХ
10^{-3}	0	0	0
10^{-4}	67,4	24,3	0,7
10^{-5}	417,9	24,3	0,8
10^{-6}	420,9	24,3	1
10^{-7}	184,3	24,3	0,8
10^{-8}	273,2	24,3	0,8
10^{-9}	465,8	24,3	1
10^{-10}	431,2	24,3	1
10^{-11}	411,2	24,3	0,7
10^{-12}	410,8	24,3	0,7
10^{-13}	434,4	24,3	0,8
10^{-14}	436,6	24,3	0,8

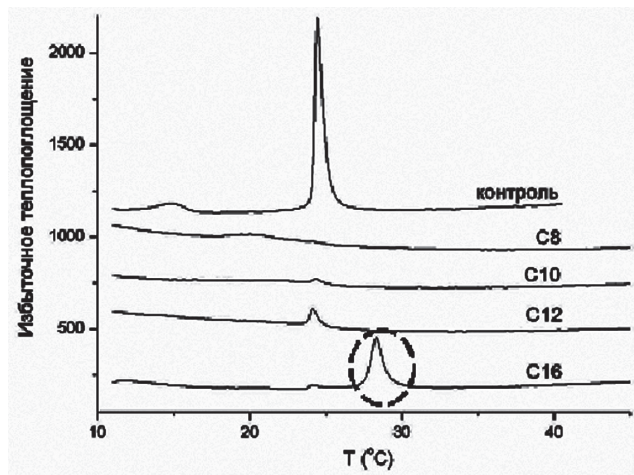


Рис. 4. Термограммы плавления ДМФХ мультиламеллярных липосом в присутствии гидрофобных БАВ – ИХФАНов с разной длиной гидрофобной части молекул от C8 до C12. ИХФАН-16 формирует собственную фазу доменов в бислое при концентрациях 10^{-5} – 10^{-6} М (отмечено овалом). Большие концентрации C10 и C12 максимально меняют бислоем, C8 и C16 влияют меньше. Оптимальная длина проникающих в бислой алкильных остатков C10, C12. Все измерения проведены в фосфатном буфере при скорости прогрева 1 град/мин.

в мультиламеллярных липосомах, сформированных из природных фосфолипидов.

Исследование воздействия БАВ – мелафена, на мембраны с использованием второй модели – мультиламеллярных липосом, сформированных из яичного лецитина. Это более сложный экспериментальный объект и в большей степени приближенный к строению и составу к природным био мембранам. Благодаря стереоспецифическим особенностям природных фосфолипидов бислоем в таких мультиламеллярных липосомах имеют мозаичную устойчивую упаковку. Выстраивание бислоя происходит соответственно зарядам молекул, размерам их гидрофильных головок, насыщенности и длине жирнокислотных остатков, а также форме молекул (цилиндрическая, трапецевидная). Поэтому такие бислои оказываются более устойчивыми к воздействию БАВ.

В настоящей работе с применением метода МУРР было выяснено, что на структурные характеристики: толщины бислоев и упорядоченность их упаковки мультиламеллярных липосомах, мелафен в широком концентрационном диапазоне (10^{-18} , 10^{-12} , 10^{-6} М) не влияет. Дифрактограмма исследованных дисперсий липосом приведена на рисунке 5. На дифрактограммах всех исследованных суспензий липосом наблюдаются два дифракционных пика с максимумами при $S \approx 0.14 \text{ нм}^{-1}$ и $S \approx 0.29 \text{ нм}^{-1}$, которые являются пер-

вым и вторым порядками отражения от упорядоченных мультислоев липидных мембран в мультиламеллярных липосомах.

Дифрактограммы всех исследованных дисперсий липосом с добавлением растворов мелафена в широком диапазоне концентраций – от ультра малых до больших, абсолютно одинаковы. Дифрактограммы всех исследованных дисперсий липосом с БАВ и контрольных совпадают. Следовательно, структура мембран в этих липосомах одинаковая. Период повторяемости мембран в липосомах D составляла 6.9 нм. При расчете по формуле (1) профиля электронной плотности липидных мембран в липосоме толщина одной мембраны, определенная как расстояние между пиками электронной плотности, соответствующими положению полярных групп липидов, составляет около 4 нм. Результаты проведенного рентгеновского дифракционного анализа показывают, что мелафен в широком диапазоне концентраций не изменяет организацию бислоев в фосфолипидных мультиламеллярных липосомах.

Фенозан, феноксан и ИХФАН-10, примененные в больших концентрациях, при встраивании в липосомы значительно изменяли структуру бислоев и упаковку в мультиламеллярных липосомах.

Исследование воздействия БАВ – мелафена и производных фенозана, на мембраны с использованием третьей модели – теней эритроцитов. Методом ДСК тестировали влияние БАВ на структуру теней эритроцитов. Тени эритроцитов это белок-липидная модель строения плазматической мембраны и цитоскелета большинства клеток животного организма. Известно, что белки плазматической мембраны и цитоскелета эритроцитов тесно взаимодействуют друг с другом

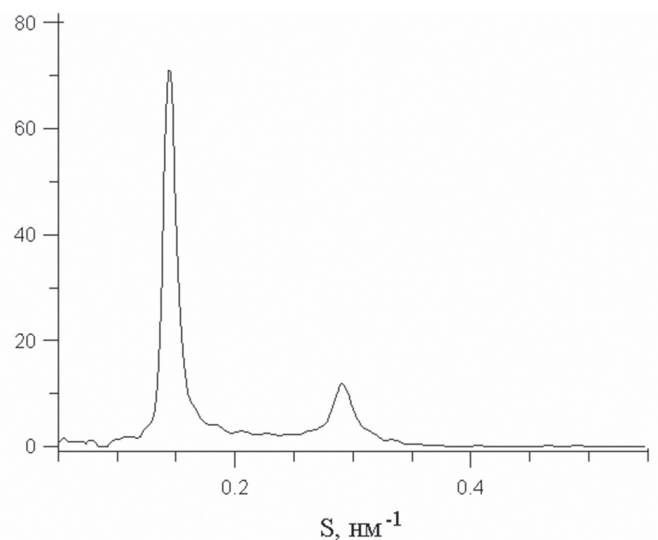


Рис. 5. Малоугловая дифрактограмма дисперсии липосом, сформированных из яичного лецитина, после введения коллимационной поправки.

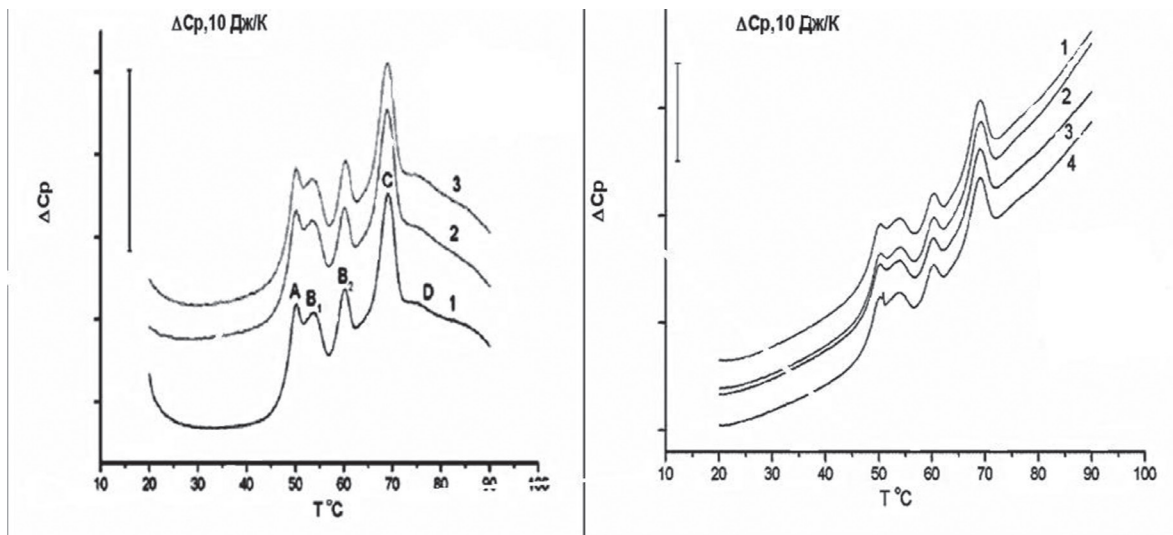


Рис. 6. Влияние мелафена на структуру белковых микродоменов при старении мембран теней эритроцитов. Слева термограммы денатурационных переходов в первый день после получения теней, справа во второй день. Все измерения проведены в фосфатном буфере при скорости прогрева 1 град/мин. Обозначения: 1-й день – 1- контроль; 2- 10^{-5} М мелафен; 3- 10^{-3} М мелафен. 2-й день – 1- контроль; 2- 10^{-8} М мелафен; 3- 10^{-6} М мелафен; 4- 10^{-4} М мелафен. A, B₁, B₂, C, D – пики термоденатурационных переходов белковых микродоменов теней эритроцитов.

и образуют мембранные домены, денатурация которых формирует структурные тепловые переходы [13,14]. Это 5 идентифицированных структурных денатурационных переходов (A-, B₁-, B₂-, C- и D- переходы). A-пик соответствует денатурации белков цитоскелета – спектрина и актина, которые обеспечивают способность эритроцитов к деформации, что является важнейшей характеристикой. B₁-пик соответствует денатурации белков цитоскелета – анкирина и демантина и белков электрофоретических полос 4,1 и 4,2, которые являются мембранными фрагментами ионных каналов. B₂-пик соответствует денатурации белков электрофоретической полосы 3, которые являются цитоплазматическими фрагментами ионных каналов. C-пик соответствует денатурации 55 kDa белка в электрофоретической полосе 3, этот белок является мембранным фрагментом ионных каналов. D-пик соответствует денатурации не идентифицированных белков, приводящей к разрушению мембраны.

Для исследования воздействия мелафена на тени эритроцитов, учитывая устойчивость предыдущих моделей к воздействию этого БАВ в широком диапазоне концентраций, тени подвергли состариванию. Известно, что при хранении белок-липидных везикул происходит разрыхление структуры, она становится менее упорядоченной и более уязвимой для воздействий. Тени эритроцитов подвергались термоиндуцированной денатурации сразу после их получения и на второй день, т.е. состаренные. Кривые термоиндуциро-

ванной денатурации – термограммы теней в присутствии разных концентраций мелафена (10^{-8} М – 10^{-3} М) представлены на рисунке 6.

Данные, полученные при денатурации теней эритроцитов, указывают на устойчивость всех белковых компонентов плазматической мембраны и цитоскелета эритроцитов к воздействию больших и малых концентраций мелафена. Если гидрофильный мелафен не влиял на структуру белковых микродоменов теней, то производные фенозана вызывали перегруппировку белковых микродоменов. Доза-зависимо менялась их устойчивость к термоденатурации. На рисунке 7 представлены термограммы теней эритроцитов в первый день после получения. Видно, что контрольная термограмма проявляет все 5 термоденатурационных пика. Добавление во время процедуры получения теней из эритроцитов ИХФАН-10 в концентрации 10^{-5} М вызывает слияние пиков B₁ и B₂, изменение температур максимумов переходов по сравнению с контролем. Но в присутствии ИХФАН-10 в концентрации 10^{-6} М вид термограммы возвращается к контрольному. По-видимому, происходит встраивание ИХФАН-10, нарушающее распределение белковых микродоменов при больших концентрациях БАВ, и стабилизирующее – при меньших концентрациях.

Обнаружено, что ИХФАН-10, в меньших по сравнению с феноксаном (данные не указаны на рисунках) концентрациях, разрушает мембранные белки. Однако белковые домены оказываются более устойчивыми к действию

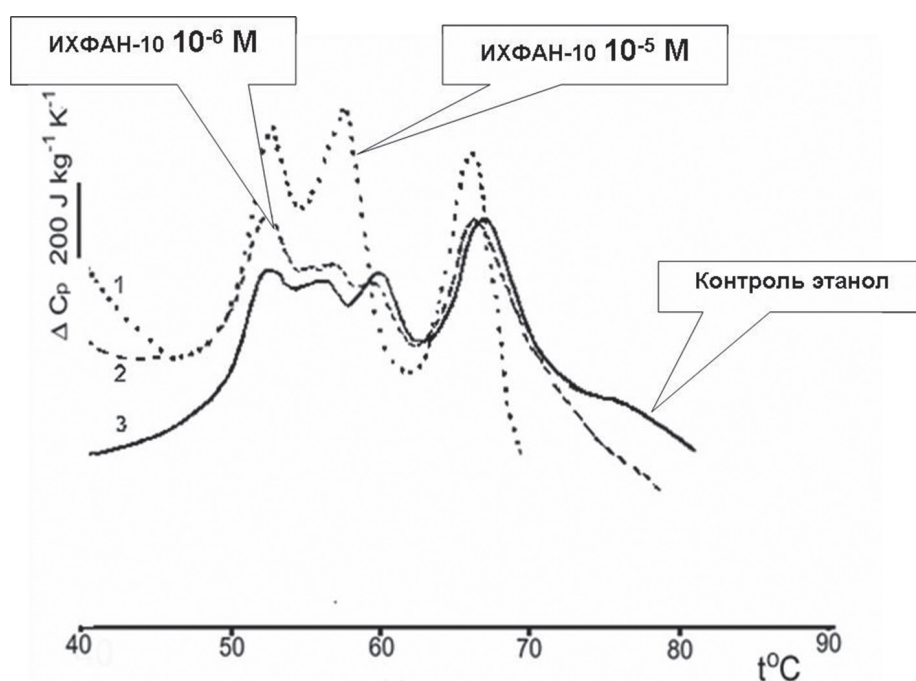


Рис. 7. Влияние ИХФАН-10 на структуру белковых микродоменов мембран теней эритроцитов. Обозначения термограмм денатурационных переходов: 1 – с добавлением 10^{-5} М ИХФАН-10; 2 – с добавлением 10^{-6} М ИХФАН-10; 3 – контрольный образец с добавлением фосфатного буфера с этанолом. Все измерения проведены в фосфатном буфере при скорости прогрева 1 град/мин.

производных фенозана, чем чисто липидные. ИХФАН-10 и феноксан смещают *A*-переход в область более высоких температур, *B*₂, *C* и *D*-переходы смещаются в область более низких температур. На термограммах видно, что цитоскелетные белки теней эритроцитов: 5 структурных переходов на термограммах, не меняют своей формы при действии феноксана в концентрации 10^{-5} М и ИХФАН-10 в концентрации 10^{-6} М. Феноксан в концентрации 10^{-5} М также не менял форму термограмм. Но ИХФАН-10 в концентрации 10^{-5} М вызывает слияние *B1* и *B2* переходов) и происходит смещение температуры максимумов переходов. Сдвиги максимальных значений термоиндуцированных переходов свидетельствуют о перестройках в организации белковых доменов в присутствии феноксана и ИХФАН-10 в концентрации 10^{-5} М. При воздействии феноксана и ИХФАН-10 в концентрации 10^{-6} М домены сохраняются, но меняются их термодинамические параметры.

Полученные данные коррелируют с исследованиями, проведенными для фенозана, феноксана и ИХФАН-10 Кривандиным А.В. с соавторами [23, 25], в которых методом МУРР были показаны значительные деформирующие воздействия на организацию мембран в мультиламеллярных липосомах. Фаткуллина Л.Д. с соавторами [26] показала, что малые концентрации ИХФАН-10 стабилизируют бислои, встраиваясь между жирнокислотными

остатками фосфолипидной фазы, а также тормозят процессы перекисного окисления.

Исследование воздействия БАВ – мелафена, на мембраны с использованием четвертой модели – изолированных из кровяного русла эритроцитов. Помимо тестирования воздействия на мембраны липидные, белок-липидные необходимо было также провести и наблюдение за поведением целых клеток в присутствии изучаемого БАВ. Ранее уже было показано влияние фенозана и его производных на морфологию и структурные свойства клеток – эритроцитов [15, 26]. В настоящей работе с учетом того, что наряду с воздействием экзогенного вещества может меняться и окружающая среда, рассмотрели сочетание воздействия мелафена и физико-химического изменения экспериментальной среды. При изменении ионной силы среды, в которую помещались эритроциты и добавлялись растворы мелафена в широком диапазоне концентраций, была проведена спектрофотометрическая регистрация освобождения гемоглобина из эритроцитов. Известно, что изменение ионной силы среды посредством добавления растворов NaCl значительно меняет проницаемость [27] эритроцитов. На рисунке 8 приведен график изменения проницаемости мембран эритроцитов в зависимости от концентрации мелафена и NaCl.

Было обнаружено, что мелафен в концентрациях 10^{-3} М, 10^{-5} М, 10^{-7} М, 10^{-9} М значительно увеличивает проницаемость эритроцитов

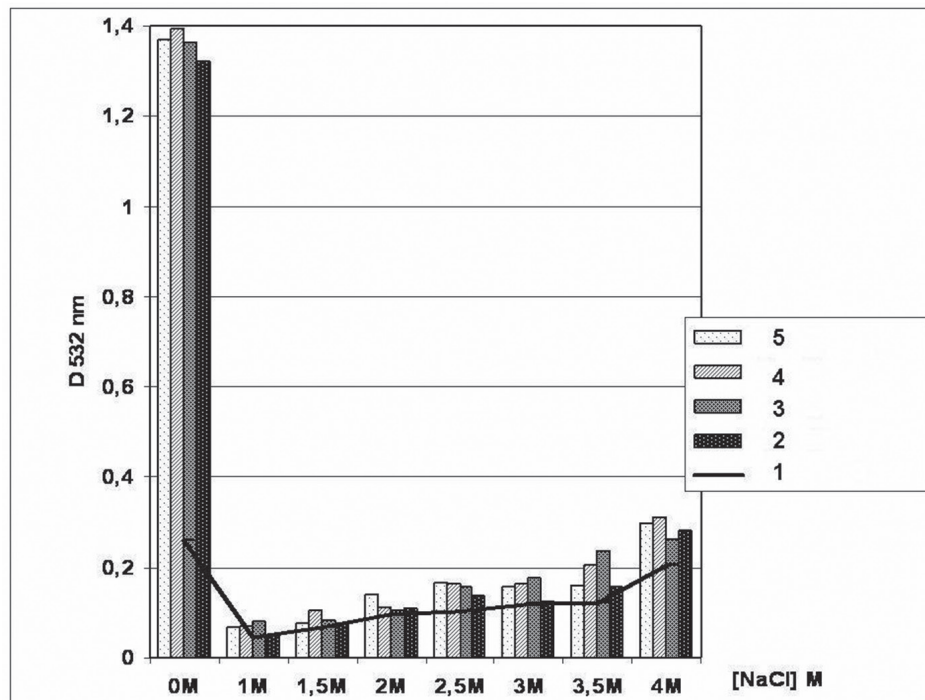


Рис. 8. Влияние мелафена на гипо- и гиперосмотический гемолиз эритроцитов. Обозначения: 1 – контроль; 2 – 10^{-3} М мелафен; 3 – 10^{-5} М мелафен; 4 – 10^{-7} М мелафен; 5 – 10^{-9} М мелафен.

для гемоглобина, что вызывает добавочное повреждение мембран по сравнению с контролем в присутствии разных значений ионной силы экспериментальной среды. Таким образом, было показано, что в целых клетках – эритроцитах мелафен вызывает дополнительную проницаемость мембран в условиях осмотического стресса. Поэтому не может применяться, как протектор для защиты целостности клеточной мембраны.

В итоге проведенных исследований выяснили, что в зависимости от степени усложнения экспериментального объекта менялся и вид воздействия мелафена и производных фенозана. Биологически активные вещества изменяли структуру синтетических мультиламеллярных липосом. Липосомы из смеси природных фосфолипидов проявили большую устойчивость структуры к воздействию биологически активных веществ. Далее исследования воздействия веществ проводились на экспериментальных моделях с более высокими уровнями организации структуры: тении эритроцитов, и целые клетки – эритроциты, Эффекты веществ на строение более сложные объектов носили не просто структурное воздействие, но влияли и на функционирование оргanelл и клеток.

Необходимо отметить, что представленные в настоящей работе данные являются лишь небольшим фрагментом в огромном массиве исследований, посвященных воздействию биологически активных веществ – регулятора роста

растений мелафена, и антиоксидантов: фенозана и его производных, в структурных и функциональных процессах, происходящих в организмах животного или растительного происхождения.

Для оценки клинической значимости полученных данных представим сведения о феноменах, полученных в фундаментальных исследованиях воздействия фенозана и его производных и мелафена на объекты более высоких уровней биологической организации – на организменном уровне. Однако данных клинических исследований в настоящий момент нет возможности предоставить.

Необходимо также отметить, что для понимания взаимодействия тестируемых БАВ с клеткой, представленные модели экспериментальных объектов достаточно адекватны. Но при действии БАВ на уровне организма, исходная молекула БАВ может значительно подвергнуться метаболизму, катаболизму, и возникнут новые вещества с новыми свойствами и мишенями и эффектами воздействия. Такой пример указан в работах Прокопова А.А. [18].

Под руководством Е.Б. Бурлаковой в ИБХФ РАН были проведены многочисленные фундаментальные исследования действия фенозана и его производных. Во-первых – на уровне организма теплокровных животных, как здоровых, так и имеющих генетические особенности. Выявлялось действие на поведенческие особенности животных. Были сделаны попытки кор-

реляции с воздействием на рецепторы. Проводились эксперименты с сочетанным влиянием фенозана с фармакологическим воздействием. Во-вторых – на уровне тканей проводились опыты с влиянием на контрактуру фрагментов кишки. В третьих, во многих работах из организма животных, подвергнутых стрессовым факторам различной природы, выделялись клетки (эритроциты) или органеллы – митохондрии, эндоплазматический ретикулум, синапсомы, плазматические мембраны. На этих объектах контролировалась проницаемость мембран, которая коррелировала с изменениями вязкости, уровнем перекисного окисления. Для выяснения мишеней действия фенозана проводилось сравнение методами атомно-силовой микроскопии и ДСК эффектов воздействия на плазматическую мембрану, на липосомы, сформированные из смеси фосфолипидов, полученных из этих плазматических мембран. Действие фенозана тестировалось в широком диапазоне концентраций в связи с тем, что были выявлены особенности действия БАВ в сверхмалых дозах: полимодальность кривых зависимости эффектов от дозы БАВ. Выяснялась природа полимодальности. Были предложены объяснения эффектов формированием супрамолекулярных комплексов БАВ-вода, которые вступают во взаимодействие с объектом иными способами, нарушая гидратные оболочки. Вопрос остался достаточно дискуссионным.

Для обсуждения эффектов, вызываемых применением мелафена, укажем, что тестированию действия мелафена на экспериментальных объектах посвящена монография «Мелафен: механизм действия и области применения». Под руководством создателя этого стимулятора роста растений Фаттахова С.Г. были выполнены многочисленные исследования на разных уровнях организации [28].

В качестве экспериментальных объектов были представлены как объекты животного происхождения, что представляет интерес в настоящей работе, так и растения сельскохозяйственного назначения, водоросли, микроорганизмы. Тестирование выполнялось также на разных уровнях организации экспериментальных объектов – от свойств водной среды до функционирования организмов в норме, патологии, при воздействии стрессовых факторов. В некоторых работах проводились одновременные исследования и сравнение эффектов фенозана, его производных и мелафена.

Изучению влияния мелафена на уровне организма теплокровного животного посвящена работа Алексеевой О.М. и Ерохина В.Н. с соавторами [29]. Было показано, что повторные инъекции растворов мелафена в широком диапазоне

разведений мышам с перевитой солидной опухолью Льюис затормаживали рост опухоли, но не влияли на продолжительность жизни животных. Этой работе предшествовали данные, полученные в работе Алексеевой О.М. [30] по влиянию растворов мелафена в широком диапазоне разведений на изолированные клетки асцитной карциномы Эрлиха, перевитой мышам. Было показано угнетение пуриновой-зависимой кальциевой сигнализации, проходящей по метаболитному пути. [30]. Однако эти работы не получили продолжения в клинических исследованиях. Также ингибирующее влияние мелафена было показано для пуриновой-зависимой кальциевой сигнализации, проходящей по неметаболитному пути в тимоцитах и лимфоцитах [30].

Действие фенозана на уровне организма было показано в работе Ерохина В.Н. и Кременцовой А.В., с соавторами [31] на мышах линии АКР со спонтанно развивающимся лейкозом. Проявилось противоопухолевое действие при четырехкратном введении сверх малых (10^{-14} моль/кг) и терапевтических дозах (10^{-4} моль/кг) растворов фенозана. Продолжительность жизни животных увеличилась. Большая доза продлила жизнь короткоживущей субпопуляции, малая – долгоживущей. Авторы предположили, что фенозан может быть перспективным противоопухолевым препаратом.

На уровне организма были проведены опыты по сочетанному влиянию радиации и БАВ. При действии радиации применение фенозана усиливает процессы репарации, как показано в работах Миль Е.М. и Бурлаковой Е.Б. с соавторами [32,33]. Низкоинтенсивное γ -облучение дозой 1,2 сГр (0,6 сГр в сутки) мышей линии АКР приводило к снижению $p53$ и ускорению лейкозного процесса. Фенозан при концентрации 10^{-14} моль/кг и 10^{-4} моль/кг увеличивал содержание регуляторных белков в сыворотке крови мышей низкоракковой линии F1(CBAC₅₇/Bl) и мышей лейкозной линии АКР. Увеличение содержания белка контроллера апоптоза $p53$ и антиапоптозного белка bcl-2 указывает на преобладание процессов репарации над процессами апоптоза. Авторы считают, что к активации белка $p53$, вызванной фенозаном или действием облучения в малой дозе, приводят различные сигнальные пути. И указывают на корреляцию с данными по снижению содержания дуплетных разрывов ДНК в клетках мышей линии АКР и F1 после воздействия фенозана, полученными в работах Жижиной Г.П. и Миль Е.М. с соавторами [34]. Было показано, что при введении животным антиоксиданта фенозана в дозах 10^{-14} моль/кг и 10^{-4} моль/кг и воздействию γ -излучения в малой дозе 1,2 сГр снижается количество дуплетных разрывов ДНК. Авторы считают, что введение фенозана оказы-

вает защитное действие на структуру ДНК. При сочетанном воздействии облучения и введения фенозана в широком диапазоне концентраций (10^{-17} М – 10^{-5} М) также обнаружено влияние и на структуры мозга. В работе Трещенковой Ю.А. с соавторами [35] показаны изменения активности фермента лактатдегидрогеназы, коррелирующее с изменением микровязкости микросом, выделенных из разных областей мозга. Авторы полагают, что структурные изменения микросом влияют на связывание фермента с мембранами.

При действии стрессов на уровне целого организма мелафен может оказывать антистрессовое действие, снижая уровень образования продуктов перекисного окисления липидов, что было прослежено по уровням флуоресценции продуктов ПОЛ. Так были показаны антирадикальные свойства мелафена. В результате изменялась микровязкость митохондрий, выделенных из печени животных, подвергнутых холодовому стрессу. Мелафен оказывал влияние и на ферменты дыхательной цепи митохондрий. Отметим, что в этой работе Жигачевой И.В. и Фаткуллиной Л.Д. с соавторами [36] такие изменения были показаны и для растительных объектов.

Роль не только мелафена, но и феноксана, как адаптогена, была также доказана в работе Жигачевой И.В. и Бурлаковой Е.Б. с соавторами [37] на митохондриях растения или печени животного после действия стресса. Было показано снижение ПОЛ до контрольного уровня, имеющее значение для сохранения функциональной активности митохондрий. Авторы делают вывод о том, что таким образом можно повысить устойчивость организмов растений или животных к воздействию стрессовых факторов. В качестве стрессовых факторов использовали гипоксию крыс, алкогольное отравление мышей. Подобные исследования провели и для митохондрий гороха после холодового стресса и засухи. Такому же антистрессовому действию мелафена посвящена работа Жигачевой И.В. и Фаткуллиной Л.Д. с соавторами [38]. Было показано, что мелафен является антиоксидантом. При применении растворов мелафена малых концентраций предотвращалось изменение в жирно-кислотном составе митохондрий, изменялись микровязкость и уровень ПОЛ, активировался перенос электронов при окислении НАД-зависимых субстратов. Было показано влияние мелафена в широкой области концентраций (от 10^{-22} М до 10^{-7} М) на уровень перекисного окисления липидов, скорость транспорта электронов в митохондриях печени. В эритроцитах, в микросомах и в митохондриях печени мелафен изменяет микровязкость аннулярных липидов, снижает уровень флуоресценции продуктов перекисного окисления липидов.

Сочетанное исследование влияния БАВ в сверхмалых дозах на поведенческие реакции животных с попыткой отслеживания влияния на ткани организма и рецепторные активности представляет большой интерес. Такая работа по изучению эффектов сверхмалых доз феноксана на уровне организма и на уровне рецепторов гладких мышц была проведена Горбатовой Е.Н. и соавторами [39]. Было обнаружено влияние феноксана на краткосрочную образную память и сон животных. Угнетение памяти, вызванное транквилизатором амизилом, введение феноксана снижало. Срок нарушения краткосрочной образной памяти у собак сокращался. Изменение сна барбитуратом гексаналом предотвращалось – введение феноксана вызывало пробуждающее действие. Влияние сверхмалых доз феноксана на функционирование рецепторов исследовали по контрактуре препаратов изолированных мышц – отрезках тонкой кишки. Не наблюдалось ни расслабления, ни сокращения тест-объектов. При этом функционирование холинорецепторов, адренорецепторов, дофаминовых рецепторов не изменялось. Авторы пришли к выводу, что феноксан в сверхмалых концентрациях оказывает влияние на процессы высшей нервной деятельности. Он проявляет антиамнезирующее действие и изменяет чувствительность животных к действию барбитуратов.

Продуктивные исследования ферментативной активности, проведенные одновременно в опытах по изучению влияния на ферменты *in vitro* и *in vivo* были представлены в работах Молочкиной Е.М. с соавторами [40]. Действие феноксана и экзогенного ацетилхолина на ацетилхолинэстеразу и систему липидной перекисидации в мембранах клеток головного мозга. Авторы указывают, что феноксан и эндогенный медиатор ацетилхолин действуют в сверхмалых дозах, проявляя характерные для эффектов сверхмалых доз закономерности. Действуют на кристаллический фермент ацетилхолинэстеразу и на сложную надмолекулярную структуру – мембраны клеток головного мозга мышей *in vitro* и *in vivo*. Феноксан влияет на систему перекисидного окисления липидов в биологических мембранах.

На культуре клеток в работах Пальминой Н.П. с соавторами [41]. было изучено действие феноксана на активность протеинкиназы С в нормальных и опухолевых клетках, растущих в культуре в условиях, приближенных к *in vivo*. В качестве биологических моделей были выбраны гладкомышечные клетки аорты крыс. Было обнаружено, что феноксан действует как активатор протеинкиназы С.

Тестирование эффектов феноксана на выделенных органеллах – эндоплазматическом

ретикулуме было проведено в работе Пальминой Н.П., и Кледовой Л.В с соавторами [42]. В сравнении с действием природного антиоксиданта – α -токоферола, было показано влияние феноксана в широком диапазоне концентраций на перекисное окисление липидов и коррелирующее с ним изменение структуры эндоплазматического ретикулума. При тестировании эффектов феноксана на выделенных плазматических мембранах в работах Пальминой Н.П. и Часовской Т.Е. с соавторами [43,44] было установлено, что основной мишенью в клетке для воздействия феноксана являются липиды. Методом ЭПР было показано, что феноксан полимодально в двух диапазонах концентраций: 10^{-6} М, 10^{-7} М и 10^{-13} М, 10^{-15} М, увеличивает упорядоченность липидов плазматических мембран клеток печени. В липосомах, сформированных из липидов, выделенных из плазматических мембран в большей степени увеличивает упорядоченность структуры. Методом ДСК выявили дополнительный термоиндуцированный переход в липидном бислое и сдвиги и уширения переходов в плазматической мембране и в липосомах при действии феноксана в концентрациях 10^{-14} М, 10^{-15} М. Методами АСМ и ДСР было показано изменение формы и размеров липосом (увеличение среднего диаметра; отношение длина/ширина; превращение шарообразной формы в палочкообразную), коррелирующее с изменением степени упорядоченности областей липидов. Авторами выдвинуто предположение, что при низких концентрациях феноксана в воде образуются наноассоциатные комплексы феноксана с водой. Эффекты таких растворов феноксана обусловлены их физико-химическими свойствами (электропроводностью). На уровне воздействия на клетки при тестировании эффектов ИХФАНов на выделенных эритроцитах в работах Паршиной Е.Ю. и Генделя Л.Я., с соавторами [45,46] методом ЭПР было определено изменение микровязкости на разных глубинах локализации парамагнитных зондов в мембране. С помощью электронной микроскопии описали изменения морфологии эритроцитов. И спектральными методами определили влияние на целостность мембраны по уровню освобождения гемоглобина. Было обнаружено, что влияние ИХФАНов на структурные свойства, затрагивает и функциональные свойства эритроцитов. Так, встраиваясь преимущественно в липидные локусы эритроцитарной мембраны, ИХФАНы уменьшали микровязкость внутримембранного пространства на различной глубине, изменяли морфологию эритроцитов и вызывали гемолиз.

Интересные данные получены при исследованиях физико-химических особенностей водных растворов и эмульсий исследуемых нами веществ в работах Коновалова А.И. и Рыжкиной

И.С. с соавторами [47]. Необходимо указать, что многие исследования были выполнены на широком диапазоне концентрации БАВ. Уменьшающиеся концентрации БАВ готовили из концентрированного водного или водно-этанольного раствора БАВ последовательным разведением. Количество БАВ, контактирующего с экспериментальным объектом, при этом не контролировалось. Еще раз напомним, что в объекте велика вероятность концентрирования и, соответственно, значительное повышение количества БАВ.

По мере усложнения экспериментального био-объекта усиливается его защищенность от деструктивного воздействия протестированных БАВ. Однако, влияние на функционирование клеток, тканей, организма со стороны экзогенных БАВ остается существенным и зависит от концентрационных диапазонов и от присутствия других физико-химических факторов: состава и ионной силы окружающей среды, радиационного облучения, фармакологически активных веществ. Также в значительной мере эффекты указанных в данной работе БАВ зависят от исходного состояния организма животного и от воздействия стрессовых факторов.

Как ранее было показано в работах Бурлаковой Е.Б с соавторами [19] эффекты БАВ, протестированных в широких диапазонах концентраций, четко демонстрируют полимодальность на кривых зависимостей доза-эффект. Обычно выявляются экстремумы в областях сверх низких и сверх высоких концентраций БАВ с «молчащей зоной» между ними. Интерпретация подобных феноменов остается дискуссионной. Однако это можно объяснить, например, для гидрофобных экзогенных веществ тем, что в больших концентрациях они просто «пробивают» клеточную оболочку, либо встраиваются в оболочку, либо проходят внутрь клетки. При этом происходит нарушение всего структурного и функционального баланса клетки. На уровне организма огромные дозы экзогенного БАВ улавливаются первыми мишенями, а далее уже идут либо малые дозы, либо происходит изменение химической структуры БАВ в результате катаболизма, метаболизма. Первые мишени получают значительное поражение структуры и функции и элиминируются из организма. Включаются также процессы репарации. Эффект «молчащей зоны» – это, по-видимому эффект отложенной реакции. Эффект сверхмалых доз – это воздействие на точечные мишени, вызывающие изменение функционирования биообъекта без деструкции. Процесс репарации в случае малых доз, вероятно, не активируется. Однако отложенный эффект малых доз в силу накопления воздействия может быть значительным. Исследование феноменов малых и больших доз БАВ нуждаются в дальнейшем исследовании

и подробном рассмотрении отложенного во времени последствия.

В работах Рыжкиной И.С., и Пальминой Н.П. с соавторами [48,49] были предприняты попытки объяснения действия сверхмалых концентраций БАВ (мелафена, феноксана, ИХФАН-10) с точки зрения взаимодействия указанных БАВ с водной средой, окружающей биообъект. Авторы утверждают, что при значительных разведениях в водных растворах образуются супрамолекулярные структуры вода-БАВ.

И именно эти супрамолекулярные комплексы и оказывают влияние на структурные и функциональные свойства экспериментальных объектов. Описаны физико-химические характеристики растворов и эмульсий, указывающие, по мнению авторов, на формирование супрамолекулярных комплексов биологически активных веществ – вода. Показано изменение светорассеяния, размеров наноассоциатов, удельной электропроводности, ζ -потенциала в зависимости от разведения БАВ. Кривые зависимостей физико-химических характеристик от концентрации БАВ коррелируют с кривые зависимостей для био-эффектов. Феномен наличия супрамолекулярных комплексов обсуждался. И остался в значительной степени не выясненным. Как указывали в своих работах Сиротюк М.Г. [50] и Гаврилов Л.Р. [51] в водных растворах существуют некавитирующие газовые пузырьки, которые могут обуславливать эффекты светорассеяния и электропроводимости в таких растворах. Было показано, что поверхность таких газовых пузырьков гидрофобна и может адсорбировать и ионы, и вещества. Так, добавление БАВ будет менять растворимость газов, кавитацию и, следовательно, физико-химические свойства тако-

го раствора. И это также может служить фактором для воздействия на биологические объекты. Вопрос остается дискуссионным и в настоящее время.

Закключение. В результате представленной нами работы было показано, что экзогенные синтетические вещества: мелафен и производные фенозана при применении в определенных концентрациях не разрушают чисто липидные мембраны и белок – липидный цитоскелет тень эритроцитов. В этом случае они могут использоваться, как регуляторы активностей природных объектов при воздействии на уровне липидных и белковых компонентов клеток. Экспериментальные объекты могут представлять интерес и как переносчики веществ. Фосфолипидные мультиламеллярные липосомы насыщаются, как гидрофобными, так и гидрофильными веществами. Температура переходов из жидко-кристаллического состояния в гелиевое может регулироваться веществами, что важно для формирования гидрофильных нанопор и понимания структуры биомембран при охлаждении и нагревании. Изменения структуры цитоскелета под действием веществ также будет оказывать влияние на функционирование клетки. Проницаемость мембран органелл и клеток, обеспечивающая активацию мембранных компонентов, может быть регулируемой не только эндогенными, но и экзогенными (синтетическими и природными) веществами. Полученные результаты с применением биологически активных веществ позволяют увидеть дальнейшие перспективы в регуляции структуры клеточных объектов и их компонентов, без разрушения, что приведет к возможности регуляции функций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фатахов С-Г.Г., Резник В.С., Коновалов А.И. Меланиновая соль бис гидроксиметил) фосфиновой кислоты (Мелафен), как новый сильный регулятор роста растений. В кн. Материалы 13 международной конференции химии фосфорных соединений. С-Пб. 2002. S. 80-2.
2. Ершов В.В., Никифоров Г.А., Володькин А.А. Пространственно-затруднённые фенолы. М. Химия. 1972.
3. Никифоров, Г.А. Белостоцкая И.С., Вольева В.Б., Комиссарова Н.Л., Горбунов Д.Б. Биоантиоксиданты "поплавокного" типа на основе производных 2,6 дитретибутил-фенола. В сб.: Биоантиоксидант. Научный вестник мед акад. 2003; 50-51.
4. Тараховский Ю.С., Кузнецова С.М., Васильева Н.А., Егорочкин М.А., Ким Ю.А. Взаимодействие таксифолина (дигидронверцитина) с мультиламеллярными липосомами из димиристоилфосфатидилолина. Биофизика. 2008; 53:78-84.
5. Антонов В.Ф., Смирнова Е.Ю., Шевченко Е.В. Липидные мембраны при фазовых превращениях. М: Наука. 1992.
6. Тараховский Ю.С. Интеллектуальные липидные наноконтейнеры в адресной доставке лекарственных веществ. М.: Издательство ЛКИ. 2011.
7. Хараноз Д.П. О возможной физиологической роли фазового перехода «жидкое-твердое» в биологических мембранах. Успехи Биологических Наук. 2001. 41. 264-333.
8. Филиппов А.В., Рудакова М.А., Гиматдинов Р.С., Семин И.Г. Диффузия липидов в биологических мембранах. Учебное пособие для студентов третьего и четвертого курсов специализации. Медицинская физика физического факультета. Казань 2006.
9. Lindblom G., Oradd G., Flipov A. Lipid lateral diffusion in bilayers with phosphatidylcholine, sphingomyelin and cholesterol. An NMR study of dynamics and lateral phase separation. Chem Phys Lipids. 2006; 141: 179-184.
10. Свергун Д.И., Фейгин Л.А. Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние. М. Изд. Наука. 1986.
11. Dodge J.T., Mitchell C., Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghost of human erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys. 1963; 100: 199-200.
12. Sato Y., Yamakose H. Suzuki Ya. Mechanism of hypotonic hemolysis of human erythrocytes. Biol. Pharm. Bull. 1993; 16: 506-512.
13. Акоев В.Р., Щербинина, С.П. Матвеев А.В., Тараховский Ю.С., Деев А.А., Шныров В.Л. Исследование структурных переходов в мембранах эритроцитов при наследственном гемохроматозе. Биолетень Экспериментальной Биологии и Медицины. 1997; 123: 279-284.
14. Акоев В.Р., Матвеев А.В., Беляева Т.В., Ким Ю.А. The effect of oxidative stress on structural transitions of human erythrocyte ghost membranes. Biochim Biophys Acta. 1998; 1371: 284-294.
15. Гендель Л.Я., Ким Л.В., Лунёва О.Г., Федин В.А., Круглякова К.Е. Изменения поверхностной архитектоники эритроцитов под влиянием синтетического антиоксиданта фенозана-1. Известия РАН. Серия Биология. 1996; 4: 508-512.
16. Бурлакова Е.Б., Голощалов А.Н., Трещенкова Ю.А. Действие малых доз фенозана на биохимические свойства лактадегидрогеназы и микровязкость мембран микросом мозга мышей. Радиационная биология. Радиоэкология. 2003; 3: 320-323.
17. Ким Ю.А., Елемесов П.Е., Акоев В.Р. Гиперосмотический гемолиз эритроцитов и антигемолитическая активность фракции сапонинов и триглицеридов гликозидов из *Rapax Ginseng* С.А. Meyer. Биологические мембраны. 2000; 17: 15-26.
18. Прокопов А.А., Шукиль Л.В., Берлянд А.С. Изучение метаболизма фенозан-нитроты в организме кроликов. Химико-фармацевтический журнал. 2006; 40: 3-4.
19. Бурлакова Е.Б. Эффект сверхмалых доз. Вестник российской Академии наук. 1994; 64: 425 - 431.
20. McMullen T.P.W., Lewis R.N.A.H., Mc Elhanev R.N. Differential scanning calorimetry study of the effect of cholesterol on the thermo tropic phase behavior of a homologous series of linear saturated phosphatidylcholines. Biochemistry. 1993; 32: 516-552.
21. Jager F.C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vitro. Nutr. et Diets. 1968; 10: 215-223.

22. Privalov P.L., Plotnikov V.V. Three generations of scanning microcalorimeters for liquids. *Therm. Acta.* 1989; 139: 257-277.

23. Архипова Г.В., Бурлакова Е.Б., Кривандин А.В., Погорещая И.Л. Влияние фенозана на структуру фосфолипидных мембран. *Нейрохимия.* 1996; 13:128-132.

24. Фаттахов С.Г. Мелафен – перспективный препарат для сельского хозяйства, биотехнологий и экобиотехнологии. В кн.: Мелафен: механизм действия и области применения. ред. Фаттахова С.Г., Кузнецова В.В., Загоскиной Н.В. Казань: Печать – Сервис XXI век; 2014: 9-14.

25. Кривандин А.В., Фаткуллина Л.Д., Шаталова О.В., Голощачов А.Н., Бурлакова Е.Б. Исследование встраивания антиоксиданта ИХФАН в липосомы методом малоуглового рентгеновского рассеяния. *Химическая физика.* 2013; 32: 91-96.

26. Fatkullina L.D., Vekshina O.M. (Aleksseeva O.M.), Burlakova E.B., Goloshchapov A.N., Kim Yu.A. Stabilization of cell membranes by hybrid antioxidants in therapy of neurodegenerative diseases. In book "In Biotechnology: State of the Art and Prospects for Development" Ed. by P.E. Stott and G.E. Zaikov. New York. Nova Science Publishers; 2008: Chapter 13. 115-123.

27. Ким Ю.А., Елемесов Р.Е., Акоев В.Р. Гиперосмотический гемолиз эритроцитов и антигемолитическая активность фракции сапонинов и тритерпеновых гликозидов из *Panax Ginseng* С.А. Meyer Биологические мембраны. 2000; 17: 15-26.

28. Фаттахов С.Г. Мелафен – перспективный препарат для сельского хозяйства, биотехнологий и экобиотехнологии. Мелафен: механизм действия и области применения. 2014; Печать – Сервис XXI век Казань (под редакцией Фаттахова С.Г., Кузнецова В.В., Загоскиной Н.В. 408 с. 9-14.

29. Алексеева О.М., Ерохин В.Н., Кременцова А.В., Миль Е.М., Бинюков В.И., Фаттахов С.Г., Ким Ю.А., Семёнов В.А., Голощачов А.Н., Бурлакова Е.Б., Коновалов А.И. Изучение влияния малых доз мелафена на клетки злокачественных новообразований животных *in vivo* и *in vitro*. Доклады Академии наук. 2010; 431: (3). 408-410.

30. Aleksseeva O.M. Chapter 9: «The Influence of Melafen-Plant Growth Regulator to some Metabolic pathways of animal cells». Book «Nanopolymers and Modern Materials Processing, Production and Applications» Editors: O.V. Stoyanov, A. K. Haghi, G. E. Zaikov Apple Academic Press, Toronto New Jersey 2013; 147-161.

31. Ерохин В.Н., Кременцова А.В., Семенов В.А., Бурлакова Е.Б. Влияние антиоксиданта - (гидрокси-3,5-дитретбутилфенил) пропионовой кислоты (фенозана) на развитие злокачественных новообразований. *Известия РАН. Сер. биол.* 2007; 5: 583-590.

32. Миль Е.М., Албантова А.А., Бурлакова Е.Б. Влияние антиоксиданта фенозана и облучения в малой дозе на содержание белков P53 и BCL-2 у мышей разных линий. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2010; 50: (1). 58-64.

33. Миль Е.М., Мышлякова О.В., Бурлакова Е.Б. p53 при низкоинтенсивных воздействиях физической и химической природы (ионизирующее излучение и антиоксидант). *Биофизика.* 2005; 50: (1). 75-79.

34. Жижина Г.П., Заварыкина Т.М., Миль Е.М., Бурлакова Е.Б. Изменение структурных характеристик ДНК селезенки у мышей после введения фенозана и общего воздействия γ -радиации в малой дозе с малой мощностью. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2007; 47: (4). 414-422.

35. Трещенкова Ю. А., Голощачов А.Н., Шишкина Л.Н., Бурлакова Е. Б. Действие малых доз антиоксиданта фенозана и облучения на гликолитические ферменты субклеточных структур клеток мозга. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2003; 43: (3). 320-323.

36. Жигачева И.В., Фаткуллина Л.Д., Русина И.Ф., Шугаев А.Г., Генерозова И.П., Фаттахов С.Г., Коновалов А.И. Антистрессовые свойства препарата мелафен. Доклады Академии Наук. 2007; 414: (2). 263-265.

37. Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б.,

Генерозова И.П., Шугаев А.Г. Роль адаптивных функций митохондрий в условиях стресса. *Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии.* 2013; 30: (4). 313-321.

38. Жигачева И.В., Фаткуллина Л.Д., Шугаев А.Г. Сверхмалые концентрации препарата «Мелафен» изменяют структурно-функциональные характеристики биологических мембран растительного и животного происхождения. «Мелафен: механизм действия и области применения». Под ред. С.Г. Фаттахова, В.В. Кузнецова, Н.В. Загоскиной. — Казань: Печать-Сервис XXI век; 2014;136-147.

39. Горбатова Е.Н., Духович Ф.С., Курочкин В.К. Изучение эффектов сверхмалых доз фенозана. *Российский Химический журнал* 1999; 43: (5). 80-81.

40. Молочнича Е.М., Озерова И.Б., Бурлакова Е.Б. Действие фенозана и экзогенного ацетилхолина на ацетилхолинэстеразу и систему перекисидации в мембранах клеток головного мозга, *Российский Химический журнал* 1999; 43: 63-71.

41. Пальмина Н.П., Мальцева Е.Л., Пынзарь Е.И., Бурлакова Е.Б. Модификация активности протеинкиназы С лигандами в сверхмалых концентрациях. Роль протеникиназы С и ее эффекторов в процессах перекисидного окисления. *Российский Химический журнал* 1999; 43: 55-63.

42. Пальмина Н.П., Кледова Л.В., Панкова Т.В. Гаинцева В.Д. К вопросу о "рецепторном" механизме действия биологически активных веществ в сверхнизких концентрациях. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2003; 43: (3). 310-314.

43. Часовская Т.Е., Мальцева Е.Л., Пальмина Н.П. Действие фенозана калия на структуру плазматических мембран клеток печени мышей *in vitro*. *Биофизика.* 2013; 58: (1). 97-105.

44. Пальмина Н.П., Часовская Т.Е., Бинюков В.И., Плащина И.Г. Механизм действия синтетического антиоксиданта фенозана калия в сверхнизких

концентрациях на поверхностные области липидов плазматических мембран. Труды VI международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». 2012; 84-97.

45. Паршина Е.Ю., Гендель Л.Я., Рубин А.Б. Влияние новых гибридных антиоксидантов - икфанов - на морфологию эритроцитов. *Биофизика.* 2004; 49: (6): 676-679.

46. Паршина Е.Ю., Гендель Л.Я., Рубин А.Б. Влияние новых гибридных антиоксидантов - икфанов - на кинетику аскорбат-индуцированного восстановления радикальных центров спиновых зондов в липосомах. *Биофизика.* 2005; 50: (4): 676-679.

47. Коновалов А.И., Рыжжина И.С., Муртазина Л.И., Тимошева А.П., Шагидуллин Р.Р., Чернова А.И., Аввакумова Л.В., Фаттахов С.Г. Супрамолекулярные системы на основе дигдрата меламиновой соли бис(оксиметил)фосфиновой кислоты (мелафена) и поверхностно-активных веществ. Сообщение 1. Строение и самоассоциация мелафена в воде и хлороформе. *Известия Академии наук. Серия химическая.* 2008; 6: 1207-1214.

48. Рыжжина И.С., Муртазина Л.И., Киселева Ю.В., Манжукова Д.Н., Тимошева А.П., Пальмина Н.П., Коновалов А.И. Свойства супрамолекулярных наноассоциатов, образующихся в водных растворах низких и сверхнизких концентраций биологически активных веществ. Доклады Академии наук. 2009; 428: (4). 487-491.

49. Пальмина Н.П., Часовская Т.Е., Рыжжина И.С., Муртазина Л.И., Коновалов А.И. Водные растворы фенозана калия: влияние на структуру биологических мембран и электропроводность. Доклады Академии наук. 2009; 429: (1). 128-131.

50. Сироток М.Г. Влияние температуры и газосодержания на кавитационный процесс. *Акустич. Журнал.* 1966; 12: (1). 87-92.

51. Гаврилов Л.Р. «Физические основы процессов ультразвуковой технологии» под ред. Л.Д. Розенберга. М. Наука. 1970; 395-426.

ghost membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1998; 1371: 284-294.

15. Gendel L.J., Kim L.V., Luneva O.G., Fedin V.A., Kruglakova K.E. Changes of cursory architectonics of erythrocytes under the impact of synthetic antioxidant Fenosan-1. Reports of Russian Academy of Science. Series. Biol. 1996; 4: 508-512 (in Russian).

16. Burlakova E.B., Goloshchapov A.N., Treschenkova Yu.A. The low doses actions to the biochemical properties of lactate dehydrogenase and microviscosity brain microsomes membranes of mice. *Radiation biology. Radioecology.* 2003; 3: 320-323 (in Russian).

17. Kim Yu.A., Elemensov R.E., Aкоеv V.R. *Hyper osmotic hemolysis of erythrocytes and antihemolytic activity of saponins fraction and triterpenic glycosides from Panax Ginseng* C. A. Meyer. *Biological Membrane.* 2000; 17: 15-26 (in Russian).

18. Prokopov A.A., Berland A.C., Shukil L.V. Investigation of Phenosan-acid acid metabolism in rabbit body. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2006; 2: 3-4 (in Russian).

19. Burlakova E.B. Effect of super low doses. *Herald of Russian Academy of science.* 1994; 64: 425 - 431 (in Russian).

20. McMullen T.P.W., Lewis R.N.A.H., Mc Elhanev R.N. Differential scanning calorimetry study of the effect of cholesterol on the thermotropic phase behavior of a homologous series of linear saturated phosphatidylcholines. *Biochemistry.* 1993; 32: 516-552.

21. Jager F.C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis *in vitro*. *Nutr. et Diets.* 1968; 10: 215-223.

22. Privalov P.L., Plotnikov V.V. Three generations of scanning microcalorimeters for liquids. *Therm. Acta.* 1989; 139: 257-277.

23. Archipova G.V., Burlakova E.B., Krivandin A.V., Pogoretskaya I.L. Phenosan-acid influence to phospholipid membrane. *Neurochemistry.* 1996; 13: 128-132 (in Russian).

24. Fattahov S.G. Melaфen- perspective preparation for agricultural, biotechnology and ecobiotechnology. At Book: Melaфen: mechanism of action and regions of using. Eds: Fattahov S.G., Kuznetsov V.V., Zagoskina N.V., Kazan: Print-Servis XXI century; 2014: 9-14 (in Russian).

25. Krivandin A.V., Fatkullina L.D. Shatalova O.V., Goloshchapov A.N., Burlakova E.B. Investigation of antioxidant IHFAN incorporation to liposomes by method small angle Rentgen scattering. *Chemical Physics.* 2013; 32: 91-96. (in Russian).

26. Fatkullina L.D., Vekshina O.M. (Aleksseeva O.M.), Burlakova E.B., Goloshchapov A.N., Kim Yu.A. Stabilization of cell membranes by hybrid antioxidants in therapy of neurodegenerative diseases. In book "In Biotechnology: State of the Art and Prospects for Development" Ed. by P.E. Stott and G.E. Zaikov. New York. Nova Science Publishers; 2008: Chapter 13. 115-123.

REFERENCES:

1. Fattakhov S.G., Reznik V.S., Konovalov A.I. Melamine Salt of Bis (hydroxymethyl) Phosphinic Acid (Melaphene) as a New Generation Regulator of Plant Growth Regulator. Proceedings of the 13th International Conference on Chemistry of Phosphorus Compounds. St. Petersburg. 2002. 80. 2 (in Russian).

2. Ershov V.V., Nikiforov G.A., Volodkin A.A. Spatially hampered phenols. M. Khimia. 1972. (in Russian).

3. 3. Nikiforov G.A., Belostotskaya I.S., Voľeva V.B., Komissarova N.L., Gorbunov D.B. Bioantioxidants "float types" at base of derivatives 2,6 ditret butyl feny. *Scientific Bulletin of the Tyumen Academy of Medicine: «Bioantioxidants».* 2003; 1: 50-51 (in Russian).

4. Tarachovsky Yu.S., Kusnetsova S.M., Vasilieva N.A., Egorochkin M.A., Kim Yu.A. Relationships of taxifolin (dihydroquercetin) with multilamellar liposomes from dimyristoilphosphatidylcholine. *Biophys.* 2008; 5: 279-84 (in Russian).

5. Antonov V.F., Smimova E.Yu., Shevchenko E.V. Lipid membranes under the phase transitions M. Nauka. 1992. (in Russian).

6. Tarachovsky Yu.S. Intellectual lipid's nana containers at address transport of medical substances. M. LKI. 2011. (in Russian).

7. Charakoz D.P. About the possible physiological role of phase transition "liquid-solid" at biological membranes. 2001; 41: 54 - 7 (in Russian).

8. Filippov A.V., Rudakova M.A., Gimatdinov R.S., Semina I.G. Lipids diffusion at biological membranes. Educational material for students of third and fourth courses specialization. Medical physics of physics department. Kazan. 2006. (in Russian).

9. Lindblom G., Oradd G., Filippov A. Lipid lateral diffusion in bilayers with phosphatidylcholine, sphingomyelin and cholesterol. An NMR study of dynamics and lateral phase separation. *Chem Phys Lipids.* 2006; 141: 179-184.

10. Svergun D.I., Feigin L.A. Rentgen and neutron small angle scattering. M. Nauka. 1986. (in Russian).

11. Dodge J.T., Mitchell C., Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghost of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 1963; 100: 199-130.

12. Sato Y., Yamakose H. Suzuki Ya. Mechanism of hypotonic hemolysis of human erythrocytes. *Biol. Pharm. Bull.* 1993; 16: 506-512.

13. Aкоеv V.R., Sherbinina S.P., Matveev A.V., Tarachovsky Yu.S., Deev A.A., Shirov V.L. Investigations of structural transitions at erythrocytes' membrane when hereditary hemochromatosis. *Bulletin Experimental biology and medicine.* 1997; 123: 279-84 (in Russian).

14. Aкоеv V.R., Matveev A.V., Belyaeva T.V., Kim Y.A. The effect of oxidative stress on structural transitions of human erythrocyte

ghost membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1998; 1371: 284-294.

15. Gendel L.J., Kim L.V., Luneva O.G., Fedin V.A., Kruglakova K.E. Changes of cursory architectonics of erythrocytes under the impact of synthetic antioxidant Fenosan-1. Reports of Russian Academy of Science. Series. Biol. 1996; 4: 508-512 (in Russian).

16. Burlakova E.B., Goloshchapov A.N., Treschenkova Yu.A. The low doses actions to the biochemical properties of lactate dehydrogenase and microviscosity brain microsomes membranes of mice. *Radiation biology. Radioecology.* 2003; 3: 320-323 (in Russian).

17. Kim Yu.A., Elemensov R.E., Aкоеv V.R. *Hyper osmotic hemolysis of erythrocytes and antihemolytic activity of saponins fraction and triterpenic glycosides from Panax Ginseng* C. A. Meyer. *Biological Membrane.* 2000; 17: 15-26 (in Russian).

18. Prokopov A.A., Berland A.C., Shukil L.V. Investigation of Phenosan-acid acid metabolism in rabbit body. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2006; 2: 3-4 (in Russian).

19. Burlakova E.B. Effect of super low doses. *Herald of Russian Academy of science.* 1994; 64: 425 - 431 (in Russian).

20. McMullen T.P.W., Lewis R.N.A.H., Mc Elhanev R.N. Differential scanning calorimetry study of the effect of cholesterol on the thermotropic phase behavior of a homologous series of linear saturated phosphatidylcholines. *Biochemistry.* 1993; 32: 516-552.

21. Jager F.C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis *in vitro*. *Nutr. et Diets.* 1968; 10: 215-223.

22. Privalov P.L., Plotnikov V.V. Three generations of scanning microcalorimeters for liquids. *Therm. Acta.* 1989; 139: 257-277.

23. Archipova G.V., Burlakova E.B., Krivandin A.V., Pogoretskaya I.L. Phenosan-acid influence to phospholipid membrane. *Neurochemistry.* 1996; 13: 128-132 (in Russian).

24. Fattahov S.G. Melaфen- perspective preparation for agricultural, biotechnology and ecobiotechnology. At Book: Melaфen: mechanism of action and regions of using. Eds: Fattahov S.G., Kuznetsov V.V., Zagoskina N.V., Kazan: Print-Servis XXI century; 2014: 9-14 (in Russian).

25. Krivandin A.V., Fatkullina L.D. Shatalova O.V., Goloshchapov A.N., Burlakova E.B. Investigation of antioxidant IHFAN incorporation to liposomes by method small angle Rentgen scattering. *Chemical Physics.* 2013; 32: 91-96. (in Russian).

26. Fatkullina L.D., Vekshina O.M. (Aleksseeva O.M.), Burlakova E.B., Goloshchapov A.N., Kim Yu.A. Stabilization of cell membranes by hybrid antioxidants in therapy of neurodegenerative diseases. In book "In Biotechnology: State of the Art and Prospects for Development" Ed. by P.E. Stott and G.E. Zaikov. New York. Nova Science Publishers; 2008: Chapter 13. 115-123.

27. Kim Yu. A., Elemensov R. E., Akoev V. R. Hyper osmotic hemolysis of erythrocytes and antihemolytic activity of saponins fraction and triterpens glycosides from *Panax Ginseng* C. A. Meyer. *Biological Membrane*. 2000; 17: 15–26 (in Russian).
28. Fattahov S.G. Melafen – perspective substance for agriculture, biotechnology and ekobiotechnology. Book “Melafen: mechanism of action and aerials of using” (Editors Fattahov S.G., Kuznetsov V.V., Zagoskina N.V.) Kazan “Pechat-Servis. XXI senture”. 2014; 9-14. (in Russian).
29. Alekseeva O.M., Erokhin V.N., Kremntsova A.V., Mill E.M., Binukov V.I., Fattahov S.G., Kim Yu. A., Semenov V.A., Golochshapov A.N., Burlakova E.B., Konovalov A.I. The investigation of melafen super low doses influences to the tumor of animals in vivo and in vitro. *Reports of Academy of science* 2010; 431: (3). 408-410. (in Russian).
30. Alekseeva O.M. Chapter 9: «The Influence of Melafen-Plant Growth Regulator to some Metabolic pathways of animal cells». Book «Nanopolymers and Modern Materials Processing, Production and Applications» Editors: O.V. Stoyanov, A. K. Haghi, G. E. Zaikov Apple Academic Press, Toronto New Jersey 2013; 147-161.
31. Erokhin V.N., Kremntsova A.V., Semenov V.A., Burlakova E.B. The influences of antioxidant – (hydroxyl-3,5-diterbutylphenil) propionic acid (phenozan) to the development of tumor. *Reports of Academy of science* 2007; 5: 583-590. (in Russian).
32. Mill E.M., Albantova A.A., Burlakova E.B. The influence of antioxidant phenozan and radiation at low doses to the contain of P53 and BCL-2 proteins at mouse of different lines. *Radiation biology. Radioecology*. 2010; 50: (1). 58-64. (in Russian).
33. Mill E.M., Mishliakova O.V., Burlakova E.B. P53 under the low intensity actions of physical and chemical natures (ionization's emissions and antioxidant). *Biophysic*. 50: (1). 75-79. (in Russian).
34. Zhizhina G.P., Zavarikina T.M., Mill E.M., Burlakova E.B. The changes of structural characteristics of DNA of mouse spleen after the injection of phenozan and mutual actions of γ -radiation at low dose with small power. *Radiation's biology. Radiation ecology*. 2007; 47: (4). 414-422. (in Russian).
35. Treuschenkova Yu.A., Golochshapov A.N., Shishkina L.N., Burlakova E.B. The actions of low doses of antioxidant phenosan and radiation to the glycolic enzymes of sub cellular structures of cells of brain. *Radiation's biology. Radiation ecology*. 2003; 43: (3). 320-323. (in Russian).
36. Zhigacheva I. V., Fatkulina L.D., Rusina I.F., Shugaev A.I., Generosova I.P., Fattahov S.G., Konovalov A.I. Antistress properties Influence of substance melafen. *Reports of Russian Academy of Sciences* 2007; 414: (2). 263-265. (in Russian).
37. Zhigacheva I.V., Burlakova E.B., Generosova I.P., Shugaev A.I. Role of adaptogens at regulation of bioenergetics' functions of mitochondrial at stress conditions. *Biology membranes*. 2013; 30: (4). 313-321.
38. Zhigacheva I. V., Fatkulina L. D., Shugaev A. I., Super Low concentrations of melafen change the structural-and functional properties of biological membranes of plant and animal's origin. Book “Melafen: mechanism of action and aerials of using” (Editors Fattahov S. G., Kuznetsov V.V., Zagoskina N.V.) Kazan “Pechat-Servis XXI senture”. 2014; 136-147. (in Russian).
39. Gorbatova E.N., Duchovitch F.C., Kurochkin V.K. Investigation of effects of super low doses of phenozan. *Russian Chemical Journal*. 1999; 43: (5). 80-81. (in Russian).
40. Molochkina E.M., Ozerova I.B., Burlakova E.B. The phenozan action to the acetylcholinesterase and system of lipid's peroxidation at membranes of brain cells. *Russian Chemical Journal*. 1999; 43: 63-71. (in Russian).
41. Palmina N.P., Maltseva E.L., Pinzar E.I., Burlakova E.B. Modification of proteinkinase C activity by ligands at superlow concentrations. The role of proteinkinase C and its effectors at processes of peroxide oxidation. *Russian Chemical Journal*. 1999; 43: 55-63. (in Russian).
42. Palmina N.P., Cledova L.V., Pankova T.V., Gaintseva V.D. To the question of the “receptors” mechanism of biological substances actions at super low concentrations. *Radiation's biology. Radiation ecology*. 2003; 43: (3). 310-314. (in Russian).
43. Chasovskaya T.E., Maltseva E.L., Palmina N.P. The phenozan action to the plasmatic membrane structure of mice liver cell's in vitro. *Biophysics*. 2013; 58: (1). 97-105. (in Russian).
44. Palmina N.P., Chasovskaya T.E., Binukov V.I., Plaschina I.G. Mechanism of antioxidant action under super low concentrations at the surface areas of plasmatic membrane areas. VI International congress “Weak and ultra weak fields and radiations in biology and medicine” 2012; 84-97. (in Russian).
45. Parshina E.Yu., Gendel L.Ya., Rubin A.B. The influence of new hybrid antioxidants – IHFANs, to the erythrocyte's morphology. *Biophysics*. 2004; 49: (6). 1094-1098. (in Russian).
46. Parshina E.Yu., Gendel L.Ya., Rubin A.B. The influence of new hybrid antioxidants – IHFANs, to the kinetics of the ascorbat-dependent reestablishment of radical centers of spin zondes at liposomes. *Biophysics*. 2005; 50: (4): 676-679. (in Russian).
47. Konovalov A.I., Rizkina I.S., Murtazina L.I., Timosheva A.P., Shagidullin R.R., Chernova A.I., Awakumova L.V., Fattakhov S.G. Supramolecular systems at the base of dihydro melamine salt bis (oximethyl) phosphinic acid (melafen) and of the surface-active substances. Speech 1. Structure and self-association of melafen in water and chloroform. *Reports of Academy of science. Chemical series*. 2008; 6: 1207-1214. (in Russian).
48. Rizkina I.S., Murtazina L.I., Kiseleva Yu.V., Mansgukova D.N., Tomosheva A.P., Konovalov A.I. Properties of supramolecular nanoassociates, formed at water solutions under low and super low concentrations of biological active substances. 2009; 428: (4). 487-491. (in Russian).
49. Palmina N.P., Chasovskaya T.E., Rizkina I.S., Murtazina L.I., Kiseleva Yu. V. Konovalov A.I. Water solutions of potassium phenozan: influence to the structure of biological membranes and electro conductivity. *Reports of Academy of science*. 2009; 429: (1). 128-131. (in Russian).
50. Sirotkin M.G. The temperature and gases containing influence to the cavitations processes/ *Acoustic Journal* 1966 1966; 12: (1). 87-92. (in Russian).
51. Gavrillov L.R. Physical bases of ultrasonic technology processes. Ed. Rosenberg L.D. M. Nauka. 1970; 395-426. (in Russian).

O.M. Alekseeva¹, A.V. Kremntsova¹, A.V. Krivandin¹, O.V. Shatalova¹, Yu.A. Kim²

MODEL BIOMEMBRANES AS TEST OBJECTS FOR DETERMINING THE CONCENTRATION RANGE OF CHEMICALS WITHOUT DESTROYING THE BIOLOGICAL OBJECTS

¹N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, 119334, Moscow, Russian Federation

²Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, 142290, Pushchino, Moscow region, Russian Federation

The paper presents data on changes in model biomembranes (liposomes, erythrocyte shadows, erythrocytes) used as test objects for determining those areas of concentrations of biologically active substances in which there is no violation of the structure or function of experimental objects. As biologically active substances synthetic ones were selected: plant growth regulator-melafen used in small doses in pre-sowing seed treatment and antioxidant derivatives -phenosan, phenoxan and Ihfans. It was shown by DSC method that phenosan derivatives in concentrations equal to 10^{-5} M and more destroy microdomain organization in bilayers of phospholipid multilamellar liposomes and reform protein microdomains in the shadows of erythrocytes. Melafen in small and large concentrations changes polymodally the microdomain organization in the bilayers of phospholipid multilamellar liposomes without destroying the structure and does not affect the protein microdomains in the shadows. Spectral analysis revealed an increase in membrane permeability in isolated whole erythrocytes under the action of melafen in large and small concentrations. The method of small-angle diffraction scattering showed the absence of melafen influence in a wide range of concentrations on the thickness of phospholipid bilayers and the order of their packing in multilamellar liposomes.

Keywords: phospholipids, multilamellar liposomes, biologically active substances, erythrocyte shadows, erythrocytes, DSC, small-angle diffraction scattering.

Переработанный материал поступил в редакцию 19.07.2019 г.

▶ КОНКУРС НАУЧНЫХ РАБОТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ

УДК 615.015 : 615.28

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ АДЕМЕТИОНИНА ПРИ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ

К.И. Усов¹, Т.А. Гуськова²,
Г.Г. Юшков¹

¹НИИ Биофизики, лаборатория токсикологических испытаний и исследований ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, г. Ангарск, Российская Федерация

²Ярославский Центр трансфера фармацевтических технологий 150010, г. Ярославль, Российская Федерация

Статья содержит результаты экспериментального токсикологического изучения применения адеметионина в качестве антиоксидантной защиты организма крыс при применении противотуберкулезных препаратов.

Ключевые слова: антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, побочные реакции, гептор (адеметионин), противотуберкулезные препараты, изониазид, рифампицин, пипразинамид, этамбутол, химиотерапия.

Введение. Неспецифические биохимические реакции обмена веществ, протекающие во всех живых клетках, определяют реактивность организма и его адаптационные возможности. Одним из регуляторных метаболических механизмов этих реакций является антиоксидантная система, представленная в виде баланса перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ – АОЗ). Процессы ПОЛ, изменяя структуру и фосфолипидный состав мембран клеток, могут влиять на существование ответа иммунокомпетентных клеток. Активация ПОЛ ведет и к искажению информации от внеклеточных регуляторов к внутриклеточным эффекторным системам, а следствием этого может быть нарушение адаптационных способностей клетки [1]. Баланс между ПОЛ и АОЗ не только отражает, но и определяет адаптационные возможности организма, а также позволяет определить риски развития метаболических расстройств [2]. Нарушение равновесия между процессами ПОЛ и антиоксидантной системой могут приводить к преобладанию реакции перекисления, заканчивающейся гибелью клетки [1].

Усиление интенсивности процессов перекисного окисления липидов, в настоящее время, принято рассматривать в качестве универсального неспецифического звена в патогенезе многих заболеваний. Известно, что воспаление, развивающееся при туберкулезной инфекции, как правило, протекает на фоне избытка продуктов ПОЛ (окислительный стресс), ответственных за повреждение мембран, капилляров и за воспалительную реакцию [3, 4]. Ежедневное введение изониазида в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг в течение 3 месяцев вызывало у подопытных крыс активацию процессов ПОЛ [5]. Активация ПОЛ была отмечена и при совместном введении крысам изониазида в дозе 30,85 мг/кг + рифампицина – 61,7 мг/кг + пипразинамида – 132,65 мг/кг в течение 28 дней [6]. Установлено, что длительное повышение активности ПОЛ является универсальным механизмом повреждения и гибели клеток, подавления репаративных процессов при повреждении органов и тканей, оказывая тем самым отрицательное влияние на эффективность лечения туберкулеза и на прогноз исхода заболевания [5, 7, 8].

Усов Константин Ильич (Usov Konstantin Ilich), кандидат биологических наук, доцент, заведующий лабораторией токсикологических испытаний и исследований НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», konstausov@yandex.ru
Гуськова Татьяна Анатольевна (Guskova Tatjana Anatolevna), заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель Председателя Всероссийской общественной организации токсикологов. Ведущий научный сотрудник отдела доклинических исследований Центра трансфера фармацевтических технологий имени М. В. Дорогова, Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского, tagus@rambler.ru

Юшков Геннадий Георгиевич (Jushkov Gennadij Georgievich), кандидат медицинских наук, доцент, научный сотрудник лаборатории токсикологических испытаний и исследований НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», prof_ushkov@mail.ru

При развитии побочных реакций на противотуберкулезные препараты (ПТП), активное участие принимают системы ПОЛ и АОЗ. Токсическое действие ПТП проявляется в увеличении в крови содержания малонового диальдегида и в снижении альфа-токоферола, что может служить прогностическим признаком тяжести лекарственных осложнений и требует назначения не менее двух антиоксидантов [9, 10]. Одним из нежелательных свойств ПТП является их гепатотоксичность. Установлено, что применение Адemetионина (АМ) снижает гепатотоксичность ПТП [11]. Однако АМ обладает также антиоксидантной активностью, в связи с чем, представляло интерес изучение влияния этого препарата на состояние антиоксидантной системы при применении ПТП.

Цель исследования. Выявить возможное влияние АМ на показатели антиоксидантной системы у крыс при введении ПТП в гепатотоксических дозах.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на белых нелинейных крысах-самцах 4 месячного возраста, массой 180-200 г. Все животные содержались в условиях специализированной экспериментально-биологической клиники (вивария), ветеринарное удостоверение 238 № 0019817. Эксперименты были проведены в соответствии с этическими требованиями [13, 14] к работам с экспериментальными животными и разрешены локальным этическим комитетом.

В экспериментах использовали следующие ПТП: Изониазид (форма выпуска: таблетки, 0,3 г); препарат Рифампицин (форма выпуска: капсулы, 0,15 г); препарат Пиразинамид (форма выпуска: таблетки, 0,5 г); препарат Гептор, МНН: адemetионин (форма выпуска: таблетки, 0,4 г). Препараты вводили *per os* в желудок в виде суспензии в дистиллированной воде с помощью металлического атравматичного зонда. Дозирование препаратов выполняли по количеству активного вещества в лекарственной форме, индивидуально для каждого подопытного животного с мониторингом массы тела ежедневно перед введением препаратов. Содержимое капсул и таблеток растиралось в ступке. Однократный объем вводимой суспензии для крыс не превышал 5 мл, максимальная продолжительность ежедневного введения не более 60 суток, в зависимости от схемы введения.

В условиях эксперимента применяли 3 схемы введения препаратов. Первая схема представляла собой двухэтапное введение исследуемых лекарственных средств. Первый этап заключался во введении ПТП в токсичных дозах до момента выявления лекарственного осложнения в виде признаков тяжелых гепатотоксических реакций, с последующей отменой ПТП. Второй этап – на-

значение препарата АМ на следующие сутки, сразу после отмены ПТП. Вторая схема представляла собой одноэтапное сочетанное применение ПТП с АМ. Применение АМ во второй схеме начинали с первого дня введения препаратов. Третья схема: в эксперимент была включена группа крыс, которым на протяжении всего срока наблюдений вводили только АМ. Для сравнения показателей, полученных от подопытных групп, была сформирована группа динамического контроля, куда были включены крысы, которым ежедневно вводили только питьевую воду, предварительно прокипяченную и охлажденную в течение 30 минут.

Гепатопротекторное средство – АМ во всех подопытных группах применяли в дозе 120 мг/кг. Выбор такой дозы был обоснован результатами ранее проведенного исследования эффективности АМ [15] при поражении печени крыс ПТП. Введение АМ осуществляли за 2 часа до введения ПТП, ежедневно, начиная с 8 часов утра. При всех схемах эксперимента препараты вводили животным ежедневно, одномоментно, совместно, начиная с 10 часов утра, в дозах, значительно превышающих максимально суточные (МСД): изониазид – 120 мг/кг (1/10 от DL_{50} , что в 21 раз превышает МСД), пиразинамид – 190 мг/кг (1/20 от DL_{50} , что в 7 раз превышает МСД), рифампицин – 634 мг/кг (1/30 от DL_{50} , что в 60 раз превышает МСД). Токсические дозы ПТП использованы с целью моделирования процесса развития тяжелых гепатотоксических реакций у подопытных крыс. В группе динамического контроля животные ежедневно получали только дистиллированную воду в дозе 12,5 мл/кг.

Изучали процессы антиоксидантной системы: перекисное окисление липидов (ПОЛ), антиоксидантная защита (АОЗ). Определяли показатели ПОЛ: гидроперекиси липидов (ГПЛ), диеновые конъюгаты (ДК), тиобарбитуровой кислоты – активные продукты процессов ПОЛ (ТБК-АП); показатели АОЗ: восстановленный глутатион (GSH), каталазу, пероксидазу [16-19].

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики, реализованные в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2010, входящем в состав лицензионного пакета офисных приложений для комплексной обработки данных Microsoft Office 2010 (Microsoft Co., США); правообладатель лицензии ФГБОУ ВПО «Ангарский государственный технический университет». Вычисляли среднее арифметическое значение (M), стандартную ошибку среднего арифметического значения (m), производили оценку значимости различий средних величин по t -критерию. Достоверными считались результаты при $p \leq 0,05$. Методики расчета величин соответ-

Показатели состояния антиоксидантной системы крыс при гепатотоксичности ПТП с АМ и без него (n = 120)

Определяемые показатели	Препараты и продолжительность их приема	Сроки регистрации показателей		
		3 сутки	30 сутки	60 сутки
Диеновые конъюгаты, в сыворотке крови, ΔЕ/мл	ПТП с 1-30 сутки, АМ с 31-60 сутки после прекращения приема ПТП	0,26 ± 0,02*	0,52 ± 0,04***	0,40 ± 0,03**
	ПТП с АМ, с 1-60 сутки	0,24 ± 0,02	0,31 ± 0,04	0,45 ± 0,03***
	АМ, с 1-60 сутки	0,22 ± 0,03	0,22 ± 0,05	0,24 ± 0,04
	Динамический контроль	0,21 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,24 ± 0,05
Гидроперекиси липидов, в сыворотке крови, ΔЕ/мл	ПТП с 1-30 сутки, АМ с 31-60 сутки после прекращения приема ПТП	1,23 ± 0,12	1,72 ± 0,08***	1,46 ± 0,08**
	ПТП с АМ, с 1-60 сутки	1,19 ± 0,06	1,33 ± 0,09**	1,52 ± 0,08**
	АМ, с 1-60 сутки	1,07 ± 0,06	1,08 ± 0,08	1,16 ± 0,13
	Динамический контроль	1,11 ± 0,10	1,08 ± 0,06	1,14 ± 0,09
Тиобарбитуровой кислоты активные продукты ПОЛ, в сыворотке крови, нмоль/мл	ПТП с 1-30 сутки, АМ с 31-60 сутки после прекращения приема ПТП	6,31 ± 0,47*	10,2 ± 0,56***	7,3 ± 0,49**
	ПТП с АМ, с 1-60 сутки	5,91 ± 0,52	6,9 ± 0,50	6,8 ± 0,52
	АМ, с 1-60 сутки	5,42 ± 0,60	5,41 ± 0,56	5,56 ± 0,53
	Динамический контроль	4,85 ± 0,51	5,42 ± 0,55	5,51 ± 0,51
SH – глутатион, в гомогенате печени, мкмоль/л	ПТП с 1-30 сутки, АМ с 31-60 сутки после прекращения приема ПТП	0,80 ± 0,04*	0,51 ± 0,05***	0,69 ± 0,02***
	ПТП с АМ, с 1-60 сутки	0,93 ± 0,03	0,79 ± 0,04**	0,75 ± 0,04***
	АМ, с 1-60 сутки	0,96 ± 0,03	0,98 ± 0,07	0,93 ± 0,05
	Динамический контроль	0,96 ± 0,06	0,95 ± 0,04	0,97 ± 0,04
Каталаза, в гемолизате эритроцитов, каталазное число	ПТП с 1-30 сутки, АМ с 31-60 сутки после прекращения приема ПТП	6,32 ± 0,64	3,52 ± 0,48***	6,29 ± 0,58
	ПТП с АМ, с 1-60 сутки	6,99 ± 0,54	5,86 ± 0,56	5,42 ± 0,52
	АМ, с 1-60 сутки	7,82 ± 0,58	7,98 ± 0,62	8,11 ± 0,54
	Динамический контроль	7,39 ± 0,52	7,21 ± 0,50	6,89 ± 0,61
Пероксидаза, в гемолизате эритроцитов, мкмоль индигокармина/мин · мл	ПТП с 1-30 сутки, АМ с 31-60 сутки после прекращения приема ПТП	148 ± 23***	171 ± 14**	201 ± 18*
	ПТП с АМ, с 1-60 сутки	156 ± 19***	191 ± 16	195 ± 22*
	АМ, с 1-60 сутки	269 ± 13	255 ± 18	261 ± 26
	Динамический контроль	255 ± 17	239 ± 20	273 ± 23

Примечание: уровень значимости различий по отношению к величинам динамического контроля, при *p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001.

ствуют требованиям, изложенным в руководстве по математической статистике для медико-биологических исследований [13, 20].

Результаты и обсуждение. При введении ПТП с АМ и без него были получены изменения контролируемых показателей по отношению к группе динамического контроля, результаты представлены в таблице.

К 30 суткам эксперимента введение ПТП оказывало максимальное влияние на процессы перекисидации, что проявлялось существенным повышением показателя ДК в 2,4 раза, ГПЛ в 1,6 раза (введение только ПТП), и в 1,2 раза (введение ПТП + АМ), ТБК-АП в 1,8 раз. Понижение величин показателей ТБК-АП и ДК выявлялось уже на 3 сутки введения ПТП, что свидетельствовало об их высокой диагностической информативности для установления самых первых признаков развития нежелательных побочных реакций на введение ПТП. Отмена ПТП с 31 суток эксперимента и назначение АМ с 31-60 сутки не приводило к полному восстановлению определяемых показателей (таблица).

Ежедневное введение ПТП с АМ в течение 60 суток сопровождалось повышением ДК в 1,9 раза только на 60 сутки введения, что свидетельствует о положительной роли АМ, как средства те-

рапии сопровождения на фоне длительного применения ПТП. Независимо от включения АМ, введение ПТП вызывало значительное снижение уровня пероксидаз на 3 сутки эксперимента, к 30 суткам снижение уровня пероксидаз было характерно для группы крыс, получавших только ПТП, что может свидетельствовать об усилении эффективности АМ в зависимости от длительности его применения. Уровень GSH был понижен на всех сроках наблюдения для подопытных крыс из первой подопытной группы, а для крыс, получавших АМ с ПТП, снижение показателя наблюдалось только с 30 суток эксперимента. Активность каталазы снижалась в 2 раза, только на 30 сутки эксперимента для крыс, получавших только ПТП с 1 по 30 сутки.

Выводы:

1. Применение АМ, в качестве средства сопровождения с первых дней введения ПТП оказывало положительное влияние на показатели антиоксидантной системы по сравнению с данными, полученными от подопытных групп, которым вводились только ПТП без АМ.

2. Полученные результаты дают основание рекомендовать применение адеметионина в качестве средства терапии сопровождения при первичном включении ПТП в схемы химиотерапии туберкулеза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Зборовская И.А., Банникова М.В. Антиоксидантная система организма, её значение в метаболизме. Клинические аспекты. Вестник российской академии медицинских наук; 1995; (6): 53-60.
- Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod Biol Endocrinol*, (10): 49-80.
- Волчегорский И.А., Новоселов П.Н., Болотов А.А. Показатели системы перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита как предикторы неблагоприятного течения инфильтративного туберкулеза легких; Проблемы туберкулеза и болезни легких; 2008; 85, (4): 28-32
- Amaral E. P., Conceição E. L., Costa D. L., Rocha M. S., Marinho J. M., Cordeiro-Santos M., D'Império-Lima M. R., Barbosa T., Sher A., Andrade B. V. N-acetyl-cysteine exhibits potent anti-mycobacterial activity in addition to its known anti-oxidative functions. *Amaral et al. BMC Microbiology*; 2016 (1): 1-10.
- Усов К.И., Юшков Г.Г., Шульгина Н.А., Седых Е.О. Сравнительное исследование биохимических процессов нарушения метаболизма триптофана при воздей-
- ствии изониазидом и изониазидом в комбинации с витамином В6 в условиях эксперимента. Вестник ангарской государственной технической академии; 2009; 3, (1): 140-143.
- Sharma R, Goyal N, Singla M, Sharma V.L. Berberis aristata Ameliorates Testicular Toxicity Induced by Combination of First-Line Tuberculosis Drugs (Rifampicin + Isoniazid + Pyrazinamide) in Normal Wistar Rats. *J. Diet Suppl*; 2018 Jun (28): 1-14.
- Есимова И. Е. Состояние липидной фазы мембраны мононуклеарных клеток крови при туберкулезе легких: автореф. дис. ... канд. мед. наук. И. Е. Есимова. Томск, 2007. – 42 с.
- Зиновьев И. П. При стандартной химиотерапии больных туберкулезом лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* возникает внутри фагоцита. Тезисы докладов XII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». М., 2005. – С. 121.
- Гурьева И. Г., Андржеюк Н. И., Смирнова Н. А. Биохимическое обоснование применения патогенетической терапии при туберкулезе легких. Проблемы туберкулеза; 1978; (11): 27-30.
- Челнокова Н.В., Мишин В.Ю., Васильева И.А. Частота и характер побочных реакций при различных режимах химиотерапии // 3 съезд научно-медицинской ассоциации фтизиатров. Сборник резюме. Екатеринбург; 1997. – С.37
- Усов К. И., Гуськова Т. А., Юшков Г. Г., Гришина Л. П., Гушин А. С. Экспериментальное обоснование терапии сопровождения с применением адеметионина для снижения гепатотоксических реакций противотуберкулезных препаратов. *Токсикологический вестник*; 2018; (6): 12-21.
- Толчий Н.В., Толпорков А.С. Гепатотоксичность – наиболее вероятные причины и возможности оптимальной коррекции гептралом. *РМЖ*; 2013; 21 (5): 249-257
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова; М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
- Гуськова Т. А. Токсикология лекарственных средств. М.: МДВ., 2008. – 196 с.
- Суханов Д.С., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В., Витовская М.Л., Коваленко А.Л. Гепатотропное действие рунихола и адеметионина при повреждении печени противотуберкулезными препаратами основного ряда в эксперименте. *Архив патологии*. 2014; 76 (2): 26-31.
- Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидрокперекисей липидов в плазме крови. *Лабораторное дело*; 1983; (3): 33-36.
- Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. Под ред. В.Н. Ореховича; М.: Медицина, 1977. – С. 66-68
- Портяная Н.И., Осипенко Б.Г., Москадынова П.А. Биохимические исследования в токсикологическом эксперименте. Под ред. М.Ф. Савченкова, В.М. Прусакова. – Иркутск: Изд-во ИГУ, 1990. – 216 с.
- Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total proteinbound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem*; 1968; (25): 192-205
- Festing M.F.W., Altman D.G. Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals. *ILAR Journal*; 2002; 43 (4): 244-258.

REFERENCES:

- Zborovskaya I.A., Bannikova M.V. Antioxidant system of the body, its importance in metabolism. Clinical aspects. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 1995. - Vol. 6. - Pp. 53 - 60 (in Russian).
- Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar B.J., Shaman A., Gupta S. The effect of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2012. - Vol. 10. - Pp. 49 - 80.
- Volchegorsky I.A., Novoselov P.N., Bolotov A.A. Parameters of the system lipid peroxidation - antioxidant protection as predictors of adverse course of infiltrative pulmonary tuberculosis. *Problems of Tuberculosis and Lung Disease*, 2008. - Vol. 85. - Iss. 4. Pp. 28 - 32 (in Russian).
- Amaral E.P., Conceição E.L., Costa D.L., Rocha M.S., Marinho J.M., Cordeiro-Santos M., D'Império-Lima M.R., Barbosa T., Sher A., Andrade B.V. N-Acetyl-cysteine exhibits potent anti-mycobacterial activity in addition to its known anti-oxidative functions. *Amaral et al. BMC Microbiology*, 2016. - Vol. 1. - Pp. 1 - 10.
- Usov K.I., Yushkov G.G., Shul'gina N.A., Sedykh E.O. Comparative study

- of biochemical processes of metabolic disorders of tryptophan under the influence of isoniazid and isoniazid in combination with vitamin B6 in experimental conditions. Bulletin of the Angarsk State Technical Academy, 2009. – Vol. 3. – Iss. 1. Pp. 140 - 143 (in Russian).
6. Sharma R., Goyal N., Singla M., Sharma V.L. Berberis aristata ameliorates testicular toxicity induced by combination of first-line tuberculosis drugs (rifampicin + isoniazid + pyrazinamide) in normal Wistar Rats. J. Diet Suppl, 2018. – Vol. 28. – Pp. 1-14.
7. Yesimova I.E. Status of the lipid phase of a membrane of mononuclear blood cells in pulmonary tuberculosis. PhD thesis, 2007. - Tomsk. - 42 p. (in Russian).
8. Zinov'ev I.P. With standard chemotherapy of tuberculosis patients, drug resistance of Mycobacterium tuberculosis occurs inside the phagocyte. Abstracts of the XII Russian National Congress "Man and Medicine", 2005. Moscow. – P. 121 (in Russian).
9. Gur'eva I.G., Andrzheyuk N.I., Smirnova N.A. Biochemical substantiation of the use of pathogenetic therapy in pulmonary tuberculosis. Problems of Tuberculosis, 1978. – Vol. 11. – Pp. 27 – 30 (in Russian).
10. Chelnokova N.V., Mishin V.Yu., Vasilyeva I.A. Frequency and nature of adverse reactions in different chemotherapy regimens. Abstracts of the 3rd Congress of the Scientific Medical Association of Phthisiologists. Ekaterinburg, 1997. – P. 37 (in Russian).
11. Usov K.I., Gus'kova T.A., Yushkov G.G., Grishina L.P., Gushchin A.S. Experimental substantiation of accompaniment therapy with the use of ademetonine to reduce hepatotoxic reactions of anti-tuberculosis drugs. Toxicological Bulletin, 2018. Vol. 6. -Pp. 12-21 (in Russian).
12. Topchiy N.V., Toporkov A.S. Hepatotoxicity – the most probable causes and possibilities of optimal correction with heptral. Russian Medical Journal, 2013.- Vol. 21. – Iss. – 5. – Pp. 249 – 257 (in Russian).
13. The guidelines for preclinical studies of pharmaceuticals. Part one. Edited by Mironov A.N. M.: Grif and K, 2012. – 944 p (in Russian).
14. Gus'kova T. A. Toxicology of drugs. M.: MDV., 2008. – 196 p. (in Russian).
15. Sukhanov D.S., Vinogradova T.I., Zabolotnykh N.V., Vitovskaya M.L., Kovalenko A.L. Hepatotropic effect of runichol and ademetonin in liver damage with anti-tuberculosis drugs of the main series in the experiment. Archives of pathology, 2014. – Vol. 76. – Iss. 2. Pp. 26 – 31 (in Russian).
16. Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I. Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxides in blood plasma. Laboratory Practice, 1983.- Vol. 3. Pp. 33 – 36 (in Russian).
17. Stal'naya I.D., Garishvili T.G. Method of the determination of malon dialdehyde using thiobarbituric acid. Modern Methods in Biochemistry. Edited by Orekhovich V.N. M.: Medicine, 1977. – Pp. 66 – 68 (in Russian).
18. Portyanaya N.I., Osipenko B.G., Moskadynova P.A. Biochemical studies in toxicological experiment. Edited by Savchenkov M.F., Prusakov V.M. Irkutsk: ISU, 1990. – 216 p. (in Russian).
19. Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total proteinbound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal. Biochem., 1968. – Vol. 25.- Pp. 192 – 205 (in Russian).
20. Festing M.F.W., Altman D.G. Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals. ILAR Journal, 2002. – Vol. 43. – Iss. 4.- Pp. 244 – 258 (in Russian).

K.I. Usov^{1,2}, T.A. Gus'kova³, G.G. Jushkov¹

ANTIOXIDANT EFFECTS OF ADEMETIONINE UNDER ADMINISTRATION OF ANTI-TUBERCULOSIS DRUGS IN TOXIC DOSES TO RATS

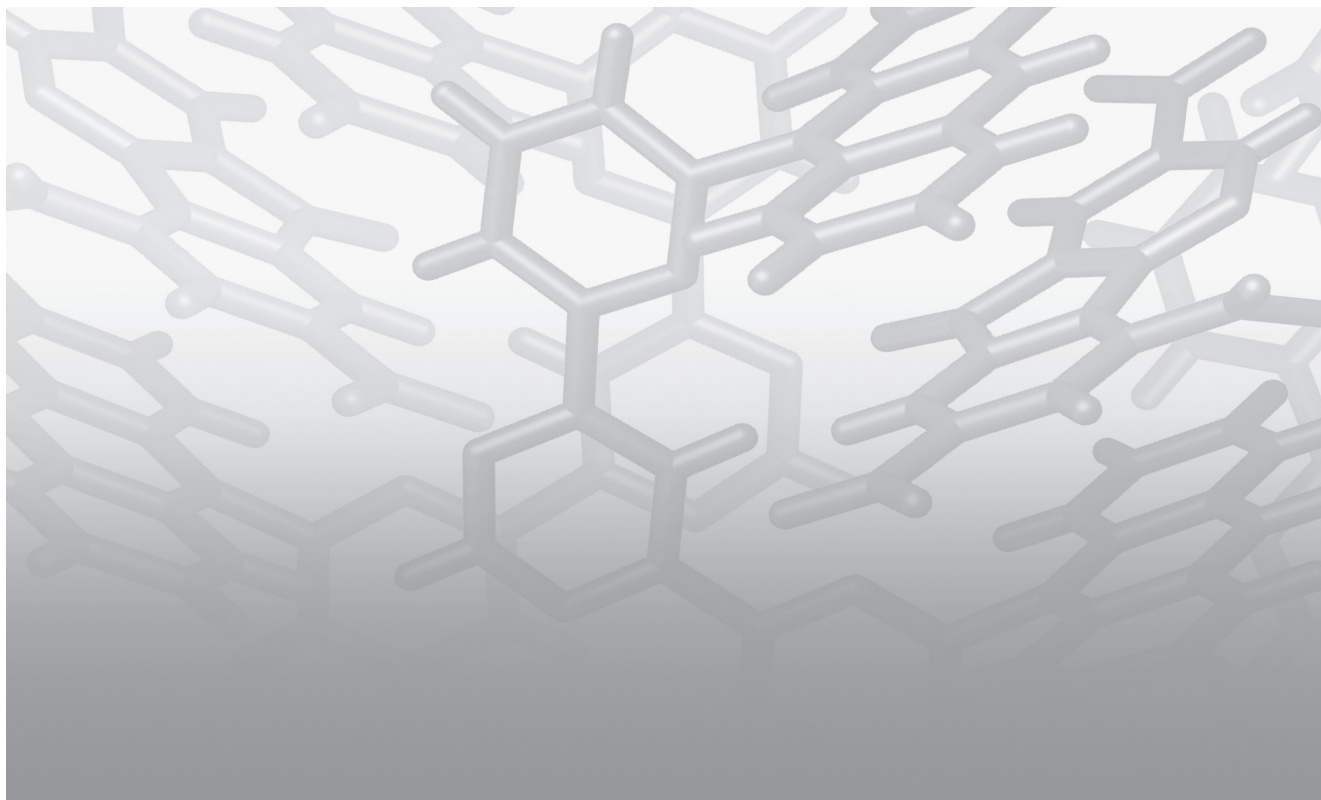
¹Research Institute of Biophysics, Laboratory of Toxicological Tests and Researches, Test Laboratory Center, Angarsk State Technical University, 665835, Angarsk, Russian Federation

²M.V. Dorogov Yaroslavl Center for the Transfer of Pharmaceutical Technologies, 150010, Yaroslavl, Russian Federation

The article presents the results of the experimental toxicological study on the use of ademetonine as an antioxidant defense in rats under administration of anti-tuberculosis drugs.

Keywords: *antioxidant system, lipid peroxidation, antioxidant protection, adverse reactions, heptor (ademetonine), anti-TB drugs, isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, ethambutol, chemotherapy.*

Материал поступил в редакцию 22.04.2019 г.



УДК 615.254.4 : 547.854.4

СНИЖЕНИЕ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ ПРОВЕДЕНИЕМ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ДИАЛИЗА С ВКЛЮЧЕНИЕМ ГИДРОКАРБОНАТА НАТРИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КРЫС УРАНИЛ АЦЕТАТОМ ДИГИДРАТОМ

К.В. Сивак¹,
Т.Н. Саватеева-Любимова¹,
Т.А. Гуськова², Р.Г. Гусейнов³

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России), 197376, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Центр трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова Ярославского государственного педагогического университета им. К.Д. Ушинского, 150010, г. Ярославль, Российская Федерация

³Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения Клиническая больница Святителя Луки (СПб ГБУЗ Клиническая больница Святителя Луки), 194044, Санкт-Петербург, Российская Федерация

В статье представлены результаты экспериментального исследования при отравлении крыс уранил ацетатом дигидратом ($1 \times LD_{50}$). Целью данной работы являлось изучение эффективности включения гидрокарбоната натрия в состав раствора для перитонеального диализа в отношении клиренса урана и выживаемости крыс. Процедуру перитонеального диализа проводили в «остром» режиме 1 день в течение 5 часов. Каждая крыса получала суммарно 6 заполнений брюшного пространства и 6 сливов ультрафильтрата. Разница при включении в состав стандартного раствора гидрокарбоната натрия (Б, 1,5%) составила для рН $\Delta=1,71$, ЕС $\Delta=5055$ мкСм/см и TDS $\Delta=2527$ мг/л. Введение раствора Б привело к увеличению скорости перитонеального клиренса урана $PCl^{[238U]}$ на 276,2% ($p=0,0286$, критерий Манна-Уитни) по сравнению со стандартным раствором А без натрия гидрокарбоната. Динамика ультрафильтрации характеризовалась линейным ростом от 1 до 3 сеанса (угол наклона линейной регрессии 70°) с выходом на плато к 3 сеансу. Величина URR составила 65,4% в 1-е сутки, 65% в 3-е сутки и 69,1% на 7-е сутки наблюдения. Результаты теста Мантела-Кокса показали, что перитонеальный диализ с добавлением гидрокарбоната натрия в качестве антидота (раствор Б) способствовал достоверному увеличению постдиализной выживаемости крыс ($p=0,0018$ по сравнению с группой негативного контроля, $p=0,0425$ по сравнению с диализом раствором А).

Ключевые слова: уран, $[^{238}U]$, крысы, острое повреждение почек, «острый» перитонеальный диализ, перитонеальный клиренс, ультрафильтрация, $PCl^{[238U]}$, URR

Введение. Ренальная форма острого повреждения почек (ОПП) при воздействии прямых нефротоксинов характеризуется развитием токсического острого канальцевого некроза [1], патогенетически наиболее близкого к ишемическому повреждению почек [2]. Уранил ацетат дигидрат (УАД) представляет собой политропный яд с

максимальным действием на проксимальные канальцы нефронов почек [3, 4, 5, 6]. Уран ингибирует натрий-зависимый транспорт глюкозы и неорганического фосфата, активность АТФ-аз, гексокиназы в клетках S_3 -зоны почечных канальцев. В результате поражения почечных канальцев нефронов развивается острое повреждение

Сивак Константин Владимирович (Sivak Konstantin Vladimirovich), кандидат биологических наук, заведующий отделом доклинических исследований ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, kvsivak@gmail.com

Саватеева-Любимова Татьяна Николаевна (Savateeva-Lyubimova Tatiana Nikolaevna), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, drugs_safety@mail.ru

Гуськова Татьяна Анатольевна (Gus'kova Tatiana Anatolevna), заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель Председателя Всероссийской общественной организации токсикологов, ведущий научный сотрудник отдела доклинических исследований Центра трансфера фармацевтических технологий имени М. В. Дорогова, tagus@rambler.ru

Гусейнов Руслан Гусейнович (Guseinov Ruslan Guseinovich), заведующий 2-м урологическим отделением СПб ГБУЗ Клиническая больница Святителя Луки, врач первой квалификационной категории, rusfa@yandex.ru

почек (ОПП) [3 - 8]. В отличие от меркаптосодержащих, гидроксипиридонатных (НОРО) соединений и диэтиленetriаминпентаацетата (ДТПА) наибольшую клиническую эффективность при инкорпорации ураном проявил гидрокарбонат натрия (внутривенное и пероральное введение), включенный в стандарт лечения радиационным центром экстренной помощи REAC/TS [9 - 11]. Экспериментально эффективность натрия гидрокарбоната была выявлена в диапазоне доз от 0,1 до 1 г/сут у крыс при отравлении нитратом уранила [9]. Гидрокарбонат ион связывается с ураном в крови, способствует его выведению и предотвращает реабсорбцию урана в почечных канальцах [9, 10, 11]. Одним из перспективных методов интракорпоральной детоксикации при экзогенных отравлениях является «острый» перитонеальный диализ (ПД) [1, 12], при котором в качестве полупроницаемой диализной мембраны выступает собственная брюшина пациента. Однако эффективность включения антидотов в раствор для диализа с целью увеличения скорости выведения токсикантов или их метаболитов через брюшину практически не изучена.

Целью данного исследования являлось изучение эффективности ПД в отношении клиренса урана при включении в раствор гидрокарбоната натрия. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи: смоделировать острое отравление нефротоксином УАД на лабораторных животных; провести сеансы ПД, забор сливов и образцов крови, пробоподготовку и анализ уровня урана в диализате; оценить показатели эффективности ПД; провести сравнительную оценку выживаемости животных.

Материалы и методы исследования. Для проведения ПД приготавливали стандартный раствор (А), содержащий стерильные фармакопейные субстанции: глюкозы моногидрат, калия хлорид, натрия хлорид, натрия ацетат тригидрат, и раствор (Б), содержащий, помимо вышеуказанных компонентов, субстанцию натрия гидрокарбоната (Медполимер фирма, ПФК АО, Россия). Растворы готовили из навесок порошков субстанций. Точность весов GR-300 устанавливали до процедуры взвешивания. В асептических условиях навески помещали в мерные колбы, растворяли и доводили до метки водой очищенной. После этого растворы фильтровали через шприц-фильтр с диаметром пор 0,22 мкм и помещали в стерильные маркированные контейнеры. Для опытных серий растворов проводили физико-химическое исследование сходимости результатов с потенциометрическим измерением уровня pH (ед.), кондуктометрическим определением электропроводности ЕС (мкСм/см) и общим содержанием TDS (ppm = мг/л) (Hanna Instruments). Эксперимент *in vivo* выполнен на

самцах крыс Sprague-Dawley с массой тела 260-320 г, полученных из питомника лабораторных животных «Пушино». Экспериментальное исследование проведено в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными и регулирующими актами. Категория боли: D – боль и страдания, облегчаемые надлежащим способом (применялся ксилазин, 10 и золетил, 50 мг/кг) [13]. Крысы были разделены на 3 группы: 1 группа – животные, получавшие УАД в дозе 20 мг/кг однократно внутривенно (в/б) (негативный контроль, n=8); 2 группа – животные, получавшие УАД в дозе 20 мг/кг однократно в/б за 43 часа до начала стандартного ПД (раствор А) (n=20), 3 группа – животные, получавшие УАД в дозе 20 мг/кг однократно в/б за 43 часа до начала ПД с добавлением гидрокарбоната натрия (раствор Б) (n=20). Для моделирования ОПП животных за 10 ч лишали корма и вводили однократно в/б раствор УАД в дозе 20 мг/кг ($1 \times LD_{50}$). Наркотизированным животным растворы А и Б вливали (V in) в брюшное пространство правого нижнего квадрата через иглу N25G и силиконовый гепаринизированный катетер с двумя полиэфирными манжетами по системе термостата с температурой 38°C (Shellab) с помощью перистальтического насоса Pharmacia (Uppsala) со скоростью 2 мл/мин в эффективном объеме 100 мл/кг и времени экспозиции 40 минут (каждый сеанс) с последующим обратным сливанием через насос в емкости для сбора диализата (V ex). Объемы измеряли. Процедуру ПД проводили в «остром» режиме 1 день в течение 5 часов. Каждая крыса получала суммарно 6 заполнений брюшного пространства и 6 сливов ультрафильтра. Величину относительной ультрафильтрации вычисляли по соотношению объемов V ex к V in по каждому сеансу, а затем строили графики линейной регрессии. При необходимости дозу наркотизирующих веществ вводили повторно. Концентрацию изотопа урана-238 [^{238}U] определяли в суммарном перитонеальном диализате после его СВЧ-минерализации (Start D, MileStone) на масс-спектрометре с индуктивно связанной плазмой ИСП-МС высокого разрешения (Element 2, ThermoScientific) в лаборатории токсикологической химии неорганических соединений (ФГБУН ИТ ФМБА России) под руководством к.х.н. Иваненко Натальи Борисовны. Концентрацию урана ^{238}U выражали в мкг/л, рассчитывали перитонеальный клиренс урана ($\text{PCl}^{[238\text{U}]}$) в мкг за 6 сеансов диализа по уравнению $\text{PCl}^{[238\text{U}]} = \text{C}^{[238\text{U}]}$, мкг/л \times V ex, л. С целью проведения биохимических исследований у этих же животных отбирали образцы крови из хвостовой вены до начала диализа и после 6-го сеанса диализа, а также на 3-е и 7-е сутки наблюдения. В сыворотке крови и перитонеальном диализате мочевины определяли

энзиматическим УФ-методом с помощью набора Fluitest UREA фирмы Analyticon на автоматическом биохимическом анализаторе Keylab (BPC BioSed srl). Расчет URR (доля снижения уровня мочевины, %) проводили по уравнению $URR = (1 - Ur_{post}/Ur_{pre}) \times 100\%$, где Ur_{pre} концентрация мочевины в крови до начала диализа, Ur_{post} концентрация мочевины в крови после диализа. Животных выводили из эксперимента путем плановой эвтаназии, которую проводили на 10-е сутки путем одномоментной декапитации под легким наркозом (применялся ксилазин и золетил). Для погибших животных проводили вскрытие с установлением причин смерти. Обработку данных выполняли с использованием пакета статистических программ GraphPad Prism 6.0 (США). Для регистрируемых количественных переменных рассчитывали параметры описательной статистики. Данные представлены в виде среднего (M) и его ошибки ($\pm SE$), 95% доверительного интервала (95% C.I.). В фармацевтических исследованиях оценивали коэффициент вариации 10-ти последовательных измерений (CV_{10}). Отличия между выборками оценивали с помощью непараметрических критериев Краскела-Уоллиса и Данна (при неравных выборках), Манна-Уитни для парных сравнений и считали значимыми при уровне $p < 0,05$. Для оценки выживаемости строили графики Каплана-Мейера. Достоверность различий кривых выживаемости оценивали с помощью log-rank теста Мантела-Кокса и считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Были приготовлены и протестированы растворы А и Б по аналогии с известным раствором «Дианил», в котором лактат натрия заменен на ацетат и исключены соли магния и кальция: раствор А (2,3% глюкозы, 0,04% калия хлорида, 0,55% натрия хлорида, 0,50% натрия ацетата) и раствор Б (2,3% глюкозы, 0,04% калия хлорида, 0,55% натрия хлорида, 0,50% натрия ацетата + 1,50% натрия гидрокарбоната). Анализ физико-химических параметров растворов А и Б показал, что величины их показателей находятся в приемлемом диапазоне (рН 6-7,6, ЕС 12-16 мСм/см). Так, рН составил $5,97 \pm 0,004$ (95% C.I.=5,94-6,00, $CV_{10}=0,24\%$) для раствора А и $7,68 \pm 0,01$ (95% C.I.=7,61-7,75, $CV_{10}=0,43\%$) для раствора Б. Электропроводность ЕС составила для раствора А $11093,4 \pm 44,4$ (95% C.I.=10812-11374, $CV_{10}=1,27\%$), а для Б – $16148 \pm 49,2$ (95% C.I.=15836-16458, $CV_{10}=0,96\%$) мкСм/см. Общее солесодержание TDS, с учетом гашения от присутствия глюкозы, для раствора А составило $5546,5 \pm 22,2$ (95% C.I.=5405-5687, $CV_{10}=1,27\%$) и Б – $8073,4 \pm 24,6$ (95% C.I.=7917-8228, $CV_{10}=0,96\%$) мг/л. Разница при введении в состав раствора Б гидрокарбоната натрия составила для рН $\Delta=1,71$, ЕС $\Delta=5055$ мкСм/см и TDS $\Delta=2527$ мг/л. С учетом

более щелочной реакции раствора Б ожидалось получение терапевтически значимого влияния на состояние метаболического ацидоза, сопровождающего ОПП токсического генеза [1, 5, 7], повышения величины ультрафильтрации за счет более высокой осмолярности, увеличения выживаемости животных, а также предупреждение развития инкапсулированного перитонеального склероза [14].

Для оценки эффективности процедуру ПД проводили, начиная с 43 часа после отравления, когда большая часть урана, поступившего в системный кровоток, подвергается 1 фазе элиминации через почки (быстро выводимая фракция с $T_{биол} = 1,8$ дня). Данные временные условия воспроизводят клиническую ситуацию у людей. Сравнительный анализ эффективности удаления урана [^{238}U] из организма за 6 сеансов ПД к 48 часам после отравления показал, что включение в состав раствора Б гидрокарбоната натрия приводит к увеличению скорости выведения токсичного элемента $PCl[^{238}U]$ (перитонеальный клиренс) на 276,2% ($p=0,0286$, критерий Манна-Уитни) по сравнению с раствором А. Полученные данные представлены на рисунке 1.

Динамика ультрафильтрации (Vex/Vin , отн. ед.) во 2-й группе животных характеризовалась среднечасовой скоростью 1,06 отн.ед., линейным ростом от 1 до 3 сеанса (угол наклона линейной регрессии 40°) с выходом на плато к 4 сеансу ПД (+27,4% ко 2-му сеансу, +41,1% к 3-му сеансу и

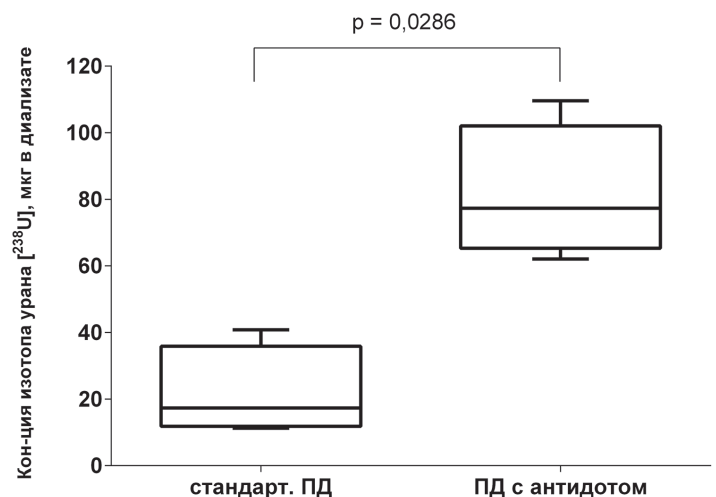


Рис. 1. Величина перитонеального клиренса $PCl[^{238}U]$ у крыс с острым повреждением почек токсического генеза через 48 часов после отравления УАД на фоне введения растворов А (стандартный ПД) и Б (ПД с антидотом). По оси абсцисс экспериментальные группы, по оси ординат – суммарное количество удаленного урана [^{238}U] за сеансы диализа.

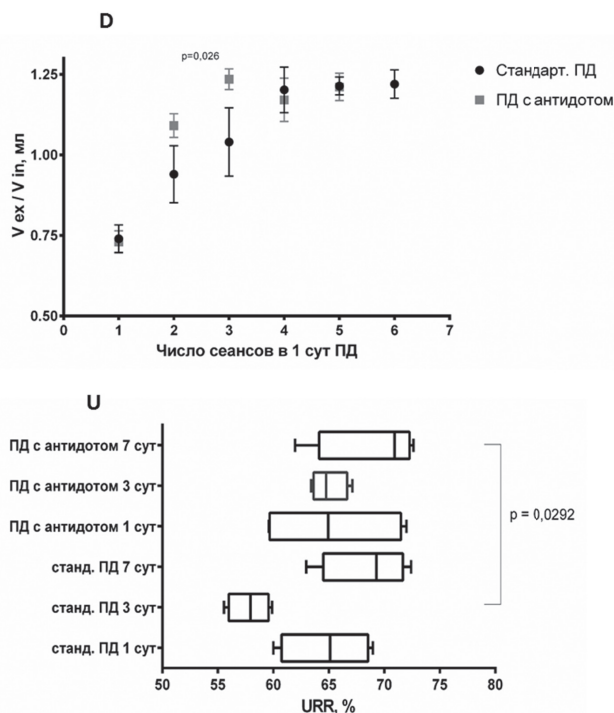


Рис. 2. Динамика ультрафильтрации в первый день диализа (D) и доля снижения уровня мочевины URR, % на 1, 3 и 7 сутки (U) у крыс с острым повреждением почек токсического генеза на фоне введения растворов А (стандартный ПД) и Б (ПД с антитодом). По оси абсцисс в D число сеансов диализа, в U – величина URR, по оси ординат – в D индекс ультрафильтрации, в U – экспериментальные группы.

+62,3% к 4-му сеансу). В 3-й группе крыс, получавших ПД раствором Б, динамика ультрафильтрации (рис. 2) характеризовалась среднечасовой скоростью 1,12 отн.ед., линейным ростом от 1 до 3 сеанса (угол наклона линейной регрессии 70°) с выходом на плато к 3 сеансу ПД (+48,7% ко 2-му сеансу, +68,5,1% к 3-му сеансу). Статистически достоверные различия отмечали при сравнении групп ПД раствором А, 1-й сеанс vs. ПД раствором Б, 3-й сеанс ($p=0,026$), ПД раствором А, 1-й сеанс vs. ПД раствором Б, 6-й сеанс ($p=0,018$), ПД раствором Б, 1-й сеанс vs. ПД раствором Б, 3-й сеанс ($p=0,024$), и ПД раствором Б, 1-й сеанс vs. ПД раствором Б, 6-й сеанс ($p=0,016$).

Доля снижения уровня мочевины (URR) составила более 60% (рис. 2). Так, в группе № 2 у крыс, получавших ПД раствором А, величина URR в 1-е сутки составила 64,8%, что рассматривалось как адекватный режим диализа. При наблюдении на 3-е сутки величина URR несколько снижалась и составила 57,8%, а при наблюдении на 7-е сутки снова увеличивалась до 68,5%. Во 3-ей группе крыс, получавших ПД раствором Б, величина URR составила 65,4% в 1-е сутки, 65% в 3-е сутки и 69,1% на 7-е сутки наблюдения. При этом ста-

статически значимые различия были выявлены при сравнении групп ПД раствором А, 3-е сутки vs. ПД раствором Б, 7-е сутки ($p=0,029$). Полученные результаты представлены на рисунке 2.

Результаты теста Мантела-Кокса показали, что в отличие от диализа раствором А (погибло 10 из 20 крыс, $p=0,0452$ по сравнению с группой негативного контроля) ПД с добавлением гидрокарбоната натрия (раствор Б) способствовал достоверному увеличению постдиализной выживаемости крыс (погибло 4 из 20, $p=0,0018$ по сравнению с группой негативного контроля, $p=0,0425$ по сравнению с диализом раствором А). Данные отражены на рисунке 3. Смертность животных в группе негативного контроля (без лечения) составила 75% (6/8), что соответствовало ожидаемой смертности от введения расчетной дозы токсиканта. Концентрация мочевины в крови отравленных крыс в премортальный период составляла более 40 ммоль/л. При вскрытии погибших крыс из всех экспериментальных групп были отмечены признаки гипергидратации легких, дилатация камер сердца, отек головного мозга, развившиеся вследствие симметричного кортикального некроза почек. Нами высказано предположение, что при базальном высоком уровне мочевины к концу вторых суток после острого отравления ураном (>40 ммоль/л) эффективность любых методов интра- или экстракорпорального очищения не будет способствовать увеличению выживаемости из-за индивидуальной повышенной восприимчивости к действию данного нефротоксина.

Полученные результаты продемонстрировали, что включение гидрокарбоната натрия в состав диализирующего раствора способствует увеличению доли удаляемого урана [^{238}U] из организма животных в 4 раза за счет связывания в более прочный гидрокарбонатный комплекс урана (константа стабильности уранил-бикарбоната $K_{\text{stab}} = 1,1 \times 10^{18}$), а также повышения скорости ультрафильтрации и удаления мочевины за счет большей осмолярности раствора. В свою очередь увеличение перитонеального клиренса урана способствует повышению уровня выживаемости отравленных животных. Таким образом, гидрокарбонат натрия можно считать эффективным антидотом в схеме применения при перитонеальном диализе в случае острого отравления УАД.

Заключение. При отравлении соединениями урана токсический элемент находится в циркуляции в виде равновесного соотношения комплексов с альбумином, липопротеинами и гидрокарбонатом плазмы крови. Последний комплекс является наиболее стабильным, что лежит в основе использования гидрокарбоната натрия в качестве антидота при отравлении нефроток-

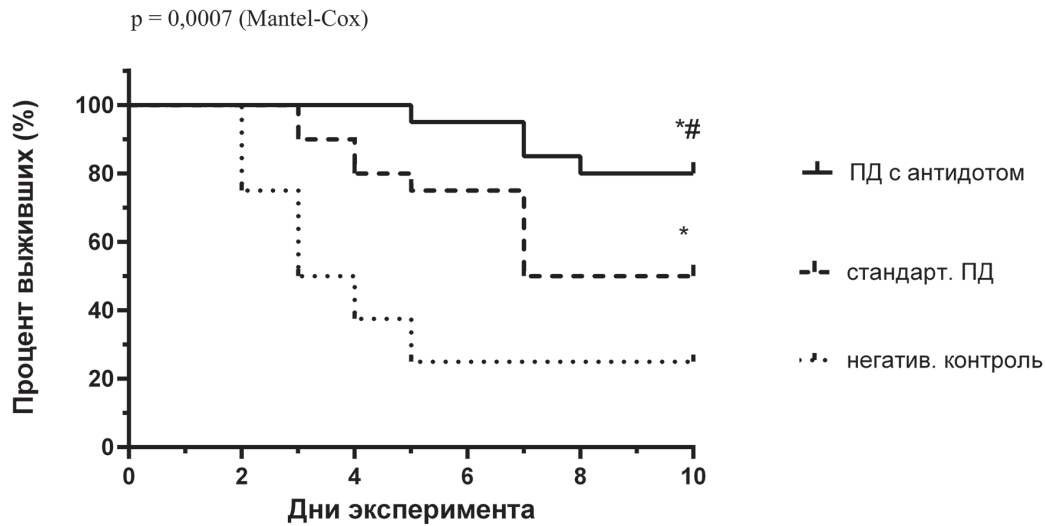


Рис. 3. Графики выживаемости Каплана-Мейера крыс с острым повреждением почек токсического генеза на фоне введения растворов А (стандартный ПД) и Б (ПД с антидотом). По оси абсцисс дни эксперимента, по оси ординат – доля выживших крыс в %.

сичным ураном. При удалении комплекса с гидрокарбонатом, например, при фильтрации в почках, равновесное соотношение нарушается, и новые порции токсиканта при продолжении введения гидрокарбоната натрия отщепляются из комплексов с альбумином и липопротеинами, в результате чего снижается степень повреждения органов-мишеней. Введение в состав рас-

твор для ПД гидрокарбоната натрия в качестве антидота способствовало увеличению перитонеального клиренса урана $PCl^{238}U$ на 276,2% по сравнению со стандартным раствором, линейному росту ультрафильтрации, снижению уровня гиперазотемии, что сопровождалось достоверным увеличением постдиализной выживаемости крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ермоленко В.М., Николаев А.Ю. Острая почечная недостаточность: руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 240 с.
2. Гусейнов Р.Г., Попов С.В., Горшков А.Н., Сивак К.В., Мартов А.Г. Влияние длительности тепловой ишемии почки на восстановление фильтрационной функции в эксперименте. Урология. 2017. № 6. С. 20-29. DOI: 10.18565/urology.2017.6.20-29
3. Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н. Биохимическая характеристика поражения почек при остром отравлении солями урана. Медицина экстремальных ситуаций, М. 2010; 4(34):96-104.
4. Способ моделирования комбинированного воздействия обедненным ураном / Пат. № 2561295 Рос. Федерация: МПКG09B 23/28 (2006.01) / Сивак К.В., Стосман К.И., Любимов М.М., Наволоцкий Д.В., Саватеева-Любимова Т.Н. – 2012.
5. Кудяева Э.Ф., Минясян В.В., Воронцова З.А. Адаптивные возможности органов с разной скоростью обновления после воздействия обедненного урана в эксперименте. Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017; 4:172-177.
6. Сивак К.В., Стосман К.И., Саватеева-Любимова Т.Н. Функциональное состояние почек и иммунологические нарушения при остром комбинированном воздействии обедненным ураном. Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2017; 2: 93-98. DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-2-93-98.
7. Воронцова З.А., Кудяева Э.Ф., Селявин С.С., Минясян В.В. Интегративные биоэффекты обедненного урана. Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. 2018; 73:125-129.
8. Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н., Гуськова Т.А. Методические подходы к раннему выявлению острого повреждения почек токсического генеза на основе динамики некоторых биомаркеров. Токсикологический вестник. 2019; (2):37-42.
9. Ohmachi Y, Imamura T, Ikeda M, et al. Sodium bicarbonate protects uranium-induced acute nephrotoxicity through uranium-decorporation by urinary alkalinization in rats [published correction appears in J Toxicol Pathol. 2016 Jan;29(1):74]. J Toxicol Pathol. 2015; 28(2):65-71. doi:10.1293/tox.2014-0041
10. Yue YC, Li MH, Wang HB, Zhang BL, He W. The toxicological mechanisms and detoxification of depleted uranium exposure. Environ Health Prev Med. 2018; 23(1):18. Published 2018 May 16. doi:10.1186/s12199-018-0706-3
11. Smith SW. The role of chelation in the treatment of other metal poisonings. J Med Toxicol. 2013; 9(4):355-369. doi:10.1007/s13181-013-0343-6
12. Vila Cuenca M, Keuning ED, Talhout W, et al. Differences in peritoneal response after exposure to low-GDP bicarbonate/lactate-buffered dialysis solution compared to conventional dialysis solution in a uremic mouse model. Int Urol Nephrol. 2018; 50(6):1151-1161. doi:10.1007/s11255-018-1872-3
13. Директива 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Rus-LASA. СПб. 2012; 48 с.
14. Kitamura M, Nishino T, Obata Y, Ozono Y, Koji T, Kohno S. New insights into therapeutic strategies for the treatment of peritoneal fibrosis: learning from histochemical analyses of animal models. Acta Histochem Cytochem. 2014;47(4):133-143. doi:10.12677/ahc.14025
1. Yermolenko V.M., Nikolaev A.D. Acute renal failure. – Moscow: GEOTAR-Media, 2010. – 240 p. (in Russ.)
2. Guseinov R.G., Popov S.V., Gorshkov A.N., Sivak K.V., Martov A.G. Effects of the of renal warm ischemia time on the recovery of filtration function in the experiment. Urology. 2017; 6:20-29. DOI: 10.18565 / urology.2017.6.20-29 (in Russ.)
3. Sivak K.V., Stosman K.I., Savateeva-Lyubimova T.N. Biochemical profile of renal damage in acute intoxication by depleted uranium soluble salts. Medicine of Extreme Situations. 2010; 4(34):96-104 (in Russ.)
4. The method of modeling the combined effects of depleted uranium / patent № 2561295 Russian Federation: МПКG09B 23/28 (2006.01) / Sivak K.V., Stosman K.I., Lyubishin M.M., Navolockij D.V., Savateeva-Lyubimova T.N. – 2012. (in Russ.)
5. Kudaeva E.F., Minasyan V.V., Vorontsova Z.A. Adaptive opportunities of organs with different rate of updates after lowed uranium impact in the experiment. Journal of New Medical Technologies. 2017; 4:172-177 (in Russ.)
6. Sivak K.V., Stosman K.I., Savateeva-Lyubimova T.N. Functional state of kidneys and immunological disorders associated with acute combined exposure to depleted uranium. Medical-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations. 2017; 2: 93-98. DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-2-93-98. (in Russ.)
7. Vorontsova Z.A., Kudaeva E.F., Selyavin S.S., Minasyan V.V. Integrative bioeffects of depleted uranium. Scientific and medical bulletin of the Tsentral'nogo Chernozem'ya. 2018; 73:125-129 (in Russ.)
8. Sivak K.V., Savateeva-Lyubimova T.N., Gus'kova T.A. Methodological approaches to early detection of acute kidney injury based on dynamics of some biomarkers. Toxicological Review. 2019; (2):37-42. (in Russ.)
9. Ohmachi Y, Imamura T, Ikeda M, et al. Sodium bicarbonate protects uranium-induced acute nephrotoxicity through uranium-decorporation by urinary

alkalinization in rats [published correction appears in *J Toxicol Pathol.* 2016 Jan;29(1):74]. *J Toxicol Pathol.* 2015; 28(2):65-71. doi:10.1293/tox.2014-0041

10. Yue YC, Li MH, Wang HB, Zhang BL, He W. The toxicological mechanisms and detoxification of depleted uranium exposure. *Environ Health Prev Med.* 2018;

23(1):18. Published 2018 May 16. doi:10.1186/s12199-018-0706-3

11. Smith SW. The role of chelation in the treatment of other metal poisonings. *J Med Toxicol.* 2013; 9(4):355-369. doi:10.1007/s13181-013-0343-6

12. Vila Cuenca M, Keuning ED, Talhout W, et al. Differences in peritoneal response after exposure to low-GDP bicarbonate/

lactate-buffered dialysis solution compared to conventional dialysis solution in a uremic mouse model. *Int Urol Nephrol.* 2018; 50(6):1151-1161. doi:10.1007/s11255-018-1872-3

13. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and the European Union Council for the Protection of Animals used for scientific purposes. *Rus-LASA.*

SPb. 2012; 48 s. (in Russ.)

14. Kitamura M, Nishino T, Obata Y, Ozono Y, Koji T, Kohno S. New insights into therapeutic strategies for the treatment of peritoneal fibrosis: learning from histochemical analyses of animal models. *Acta Histochem Cytochem.* 2014;47(4):133-143. doi:10.1267/ahc.14025

K.V. Sivak¹, T.N. Savateeva-Lyubimova¹, T.A. Gus'kova², R.G. Guseinov³

REDUCTION OF NEPHROTOXICITY BY PERITONEAL DIALYSIS WITH ADDITION OF SODIUM HYDROCARBONATE DURING POISONING WITH URANIUM ACETATE DIHYDRATE IN RAT

¹A.A. Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 197376, Saint Petersburg, Russian Federation

²M.V. Dorogov Yaroslavl Center for the Transfer of Pharmaceutical Technologies, K.D. Ushinsky Yaroslavl State Pedagogical University, 150010, Yaroslavl, Russian Federation

³Clinical Hospital of St. Luka (Saint Petersburg Clinical Hospital of St. Luka), 194044, Saint Petersburg, Russian Federation

The article presents the results of an experimental study on rats' poisoning with uranyl acetate dihydrate ($1 \times DL_{50}$). The aim of this work was to investigate the effectiveness to the sodium bicarbonate additive to the composition of the solution for peritoneal dialysis in relation to uranium clearance and survival of rats. The procedure of peritoneal dialysis was carried out in the "acute" mode in 1 day for 5 hours. Each rat received a total of 6 abdominal fillings and 6 ultrafiltration drains. The differences for pH $\Delta=1.71$, EC $\Delta=5055 \mu\text{S} / \text{cm}$ and TDS $\Delta=2527 \text{ mg} / \text{L}$ have been observed by addition of sodium bicarbonate (B, 1.5%) to the standard solution. The administration of solution B led to an increase in the rate of peritoneal clearance of uranium ^{238}U by 276.2% ($p=0.0286$, Mann-Whitney criterion) compared to standard solution A without sodium bicarbonate. The dynamics of ultrafiltration were characterized by a linear growth from 1 to 3 sessions (the slope of the linear regression is 70°) to an exit to the plateau by 3 sessions. The URR was 65.4% in the 1st day, 65% in the 3rd day, and 69.1% in the 7th day. The results of the Mantel-Cox test have showed that peritoneal dialysis with the addition of sodium bicarbonate as an antidote (solution B) contributed to a significant increase in postdialysis survival of rats ($p=0.0018$ compared to the negative control group, $p=0.0425$ compared to dialysis solution A).

Keywords: uranium, ^{238}U , rats, acute kidney injury, "acute" peritoneal dialysis, peritoneal clearance, ultrafiltration, ^{238}U , URR.

Материал поступил в редакцию 11.06.2019 г.



▶ КОНКУРС НАУЧНЫХ РАБОТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ

УДК 614.2 : 615.277.4 : 661.64 : 628.1

ОЦЕНКА КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПОДЗЕМНЫХ ВОД С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ МЫШЬЯКА В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКОВ ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН

Т.О. Абдулмуталимова

ФГБУН Институт геологии
Дагестанского научного
центра Российской
академии наук, 367030,
г. Махачкала, Российская
Федерация

Проведена гигиеническая оценка питьевых подземных вод, используемых для питьевого водоснабжения населением северной части Республики Дагестан на протяжении нескольких десятилетий. Выявлено содержание мышьяка в источниках питьевого водоснабжения выше допустимого норматива ВОЗ до 50 раз. Использование региональных факторов водопотребления позволило рассчитать индивидуальный и популяционный канцерогенные риски для населения при длительном использовании подземных вод для питьевого водоснабжения. Показано, что индивидуальный канцерогенный риск составил при минимальной концентрации (0,01 мг/л) – $4,3E-4$; при максимальной концентрации (0,5 мг/л) – $2,1E-2$, соответственно, при среднем значении 0,14 мг/л – $6,0E-3$. Выявленные уровни пожизненных индивидуальных канцерогенных рисков (в течение 70 лет) превышают «допустимый» (целевой) уровень (10^{-5}) и оцениваются как неприемлемые для сохранения здоровья населения. Для экспонированного населения исследованных районов Северного Дагестана (309,7 тыс. чел) величины популяционных годовых канцерогенных рисков, отражающих дополнительное (к фоновому) число случаев злокачественных новообразований, способных возникнуть в течение года, составили от 1 до 95 случаев. Результаты данного исследования позволили выявить территории с высоким уровнем содержания мышьяка в питьевой воде и определить экспонируемую часть населения для осуществления мер по снижению риска. Для оценки экспозиции населения и установления связи между воздействием мышьяка и его кумуляцией в организме человека был проведен биомониторинг, результаты которого позволили установить достоверную корреляцию между содержанием мышьяка в волосах экспонируемых жителей и его содержанием в потребляемой питьевой воде.

Ключевые слова: мышьяк, подземные воды, питьевая вода, канцерогенный риск.

Введение. Проблема неблагоприятного влияния факторов окружающей среды на состояние здоровья населения в последнее время приобретает всё большую актуальность. Содержание некоторых токсичных контаминантов в объектах окружающей среды определяет необходимость оценки их воздействия на здоровье населения для своевременного принятия необходимых управ-

ленческих мер с целью предотвращения и профилактики заболеваний, связанных с дисбалансом микроэлементного статуса населения.

Известно, что уровень общественного здоровья и качество окружающей среды на различных территориях в значительной степени определяются биогеохимической ситуацией, в т.ч. геохимическим составом подземных вод. В северной

части Дагестана подземные артезианские воды являются единственным источником питьевого водоснабжения. Эти воды имеют стабильный химический состав и хорошие вкусовые качества, однако, не соответствуют гигиеническим требованиям по содержанию мышьяка, накоплению которого способствуют особенности геологического строения данной территории [1-3].

В литературе накоплен достаточно большой материал по воздействию мышьяка на здоровье человека [4-7]. Установлено, что при повышенном его содержании в среде обитания и хроническом поступлении в организм, происходит кумуляция мышьяка в тканях и органах человека, способствуя развитию предпатологических и патологических состояний. Более того, основываясь на достоверных сведениях, подтверждающих канцерогенный характер воздействия мышьяка на человека, МАИР включило мышьяк и его соединения в первую, наиболее опасную для здоровья группу канцерогенов [8], поэтому оценка риска хронического перорального воздействия мышьяка здоровью населения Северного Дагестана крайне актуальна.

В международной практике, в том числе и в России, методология оценки риска широко используется как аналитический инструмент управления качеством окружающей среды и здоровьем населения. Применение методологии оценки риска для выявления ущерба здоровью населения, вызванного пероральным воздействием мышьяка, необходимо для разработки и обоснования выбора приоритетных путей управления рисками [9-17].

В связи с вышеизложенным, была обоснована актуальность исследований, которые велись с целью оценки воздействия артезианских питьевых вод с высоким уровнем содержания мышьяка на здоровье населения с использованием методологии оценки риска. Для подтверждения кумуляции мышьяка в организме экспонированных жителей использовался метод биомониторинга.

Материалы и методы исследования. Для определения содержания мышьяка в питьевых водах и биосубстратах (волосах) использовался метод атомно-абсорбционной спектроскопии с гидридной приставкой (ААС-ГГ), который отличается высокой чувствительностью и селективностью [18].

В основу гигиенической характеристики качества артезианских вод по содержанию мышьяка, положены лабораторные исследования, результаты которых оценивались в соответствии с требованиями нормативных документов ВОЗ, ГН 2.1.5.1315-03 [19,20].

Для количественной оценки влияния питьевых вод с высоким содержанием мышьяка на состояние здоровья населения использовалась методология оценки риска для здоровья населения,

в рамках которой задействован алгоритм, рекомендованный ВОЗ и другими ведущими международными организациями. Оценка риска для здоровья населения проводилась в соответствии с «Руководством по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду» (Р 2.1.10.1920-04). Канцерогенная опасность оценена в отношении индивидуальных и популяционных канцерогенных рисков при хроническом пероральном воздействии.

Для проведения биомониторинга методом случайной выборки были выбраны жители старше 30 лет, постоянно проживающие в исследованных населённых пунктах Северного Дагестана с различным уровнем содержания мышьяка в питьевых артезианских водах.

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ содержания мышьяка в питьевой воде выявил:

- Диапазон определяемых концентраций мышьяка, который варьирует от 0,01 до 0,5 мг/л, в 97 % образцах воды – превышение гигиенического норматива 0,01 мг/л.

- Высокое содержание мышьяка в питьевой воде (от 0,4 до 0,5 мг/л), обнаруженное в 4,8% образцах питьевой воды; в 79,4 % образцах питьевой воды содержание мышьяка – на уровне 0,05-0,3 мг/л; в 15,8 % образцах воды – низкое содержание мышьяка (0,01 – 0,04 мг/л). Среднее содержание мышьяка по районам исследований, составляющее 0,19 мг/л, что превышает нормативный уровень в 19 раз.

- Превышение гигиенического норматива в 20 и более раз в 12 населенных пунктах с общей численностью населения – 15,8 тыс. человек, что составляет 3% от общей численности населения исследованных населенных пунктов (на 01.01.2014г. – 309,7 тыс. человек).

На основании полученных данных было проведено ранжирование территории исследований по уровню содержания мышьяка в питьевой воде. В зависимости от уровня загрязнения питьевой воды мышьяком, исследованная территория разделена на 5 групп: группа с низкими концентрациями мышьяка в диапазоне 0,01 – 0,04 мг/л и 4 группы с концентрациями от 0,05 мг/л и выше (0,05 – 0,09 мг/л; 0,1 – 0,19 мг/л; 0,2 – 0,3 мг/л; 0,4 – 0,5 мг/л). Экспонированная часть населения также дифференцирована по уровню содержания мышьяка в питьевой воде (табл. 1).

Большая часть населения (53,9 %) потребляет питьевую воду с содержанием мышьяка до 0,04 мг/л и около 3 % населения используют для питья воду с содержанием мышьяка в 40-50 раз выше норматива.

Анализ водопотребления в результате опроса 460 человек выявил приблизительную структу-

Таблица 1

Содержание мышьяка в питьевой воде подземных источников водоснабжения и численность экспонированного населения

Район	Содержание мышьяка в питьевой воде, мг/л (ГН-0,01 мг/л)	Частота распределения концентраций мышьяка, %	Численность экспонированного населения, тыс. чел.	Доля от общей численности населения исследованных районов Северного Дагестана (309,7 тыс. чел.), %
1	0,01-0,04	15,8	167134	53,9
2	0,05-0,09	24,7	16985	5,5
3	0,1 - 0,19	36,8	108147	34,9
4	0,2 - 0,3	17,9	9023	2,9
5	0,4 - 0,5	4,8	8444	2,8
6	0,01 - 0,5	100	309733	100

ру суточного потребления воды населением районов исследований: 11 % опрошенных респондентов потребляют 1,5 литра воды в день; 74 % потребляют 2 литра воды; 15 % – 2,5 литра. По оценке органолептических свойств питьевой воды 5 % респондентов отмечают примеси в воде и иногда неприятный запах, 11 % опрошенных отмечают хорошие органолептические свойства воды и осведомлены неофициально о несоответствии потребляемой ими питьевой воды гигиеническому нормативу содержания мышьяка, 84 % респондентов отмечают высокое качество и считают воду пригодной (и даже полезной) для потребления. Низкий уровень претензий к качеству связан, прежде всего, с тем, что мышьяк даже в концентрации 100 мг/л не меняет органолептические свойства воды и у населения не возникает настороженности в отношении её качества. Результаты водопотребления, полученные в ходе опроса населения, использовались в ходе проведения оценки перорального воздействия мышьяка на здоровье населения. Индивидуальный канцерогенный риск (ICR) для жителей исследованных населенных пунктов Северного Дагестана в условиях перорального поступления мышьяка с питьевой водой составляет: при минимальной концентрации (0,01 мг/л) ICR_{min} – 4,3E-4; на уровне максимальной концентрации (0,5 мг/л) ICR_{max} – 2,1E-2, при среднем значении (0,19 мг/л) – 8,1E-3. Популяционные канцерогенные риски для экспонированного населения численностью 309,7 тыс. человек при наиболее низких (0,01-0,5 мг/л) и высоких (0,4 – 0,5 мг/л) концентрациях мышьяка в питьевой воде составят от 2 до 95 дополнительных случаев рака в год, при средней концентрации мышьяка (0,19 мг/л) – 36 дополнительных случаев заболеваний в год.

Фактически численность жителей Северного Дагестана, потребляющих питьевую воду

с высоким содержанием мышьяка, значительно выше, и, следовательно, при экстраполяции на все население популяционные риски также будут на порядок выше. При сохранении уровней экспозиции мышьяка, полученных нами в ходе исследований, популяционные канцерогенные риски для всего экспонированного населения Северного Дагестана, численность которого 510,9 тыс. человек, составят: при минимальном уровне содержания мышьяка в питьевой воде (0,01 мг/л) – 3 дополнительных случая заболеваний в год, при максимальном уровне (0,5 мг/л) – 125 случаев и при средней концентрации мышьяка (0,19 мг/л) – 48 дополнительных случаев заболеваний в год. Полученные в ходе данного исследования результаты оценки канцерогенного риска находятся на уровне выше допустимого согласно Руководству ВОЗ по качеству питьевой воды, который установлен на уровне 10^{-5} .

Таким образом, высокие концентрации мышьяка в питьевых водах артезианского бассейна обуславливают высокие риски развития заболеваний неинфекционной природы, что, в свою очередь, определяет эти воды как непригодные для хозяйственно-питьевого использования населением.

Уровень мышьяка в волосах является одним из показателей его поступления в организм. Концентрация мышьяка в волосах прямо пропорциональна его концентрации в питьевой воде. Используя волосы в качестве диагностического биосубстрата и, учитывая кумулятивные свойства мышьяка, можно определить, подвергается ли население длительной экспозиции соединений мышьяка. Фоновый уровень содержания мышьяка в волосах людей, не подвергающихся экспозиции мышьяка, находится в диапазоне 0,1 – 0,2 мкг/г. При содержании

Таблица 2

Распределение содержания мышьяка в волосах жителей Северного Дагестана

Содержание мышьяка в волосах, мкг/г	Число образцов	Частота встречаемости, %
≤ 0,5	56	57,7
0,5 - 0,9	31	32
≥ 1	10	10,3

мышьяка в волосах более 1,0 мкг/г возможно проявление признаков хронической интоксикации и этот показатель рекомендуется как пороговый. При данном уровне содержания мышьяка в волосах у экспонированных лиц отмечались признаки арсенозов.

В ходе проводимого исследования для проведения биомониторинга были выбраны жители, постоянно проживающие на территории населенных пунктов с различным уровнем содержания мышьяка в питьевых водах и потребляющих для питья воду из артезианских скважин. Концентрация мышьяка в питьевой артезианской воде данных населенных пунктов составляла: 0,01-0,04 мг/л; 0,05-0,09 мг/л; 0,1-0,19 мг/л; 0,2 – 0,3 мг/л; 0,4-0,5 мг/л, соответственно. Выборка состояла из 97 человек, из которых 73 (75 %) женщины и 24 (25 %) мужчины. Средний возраст жителей составил – 51 год.

Результаты анализа содержания мышьяка в волосах представлены в таблице 2.

Таким образом, 10% обследованных жителей могут быть отнесены в группу риска по арсенозу, так как содержание мышьяка в волосах превышает пороговые значения и подтверждается накопление мышьяка в организме. Следует отметить, что содержание мышьяка в волосах выше 1 мкг/г обнаружено у лиц, потребляющих воду с содержанием мышьяка 0,5 мг/л.

При выявлении зависимости содержания мышьяка в волосах обследованных лиц от его содержания в питьевой воде, получено уравнение регрессии: $y = 1,3661x + 0,1395$ (рис.). Согласно приведенному уравнению, при значении концентрации мышьяка (A_s) в воде, равной 0,1 мг/л (значение – x), концентрация мышьяка в волосах может составить примерно 0,28 мкг/г (значение – y). Или при увеличении концентрации мышьяка

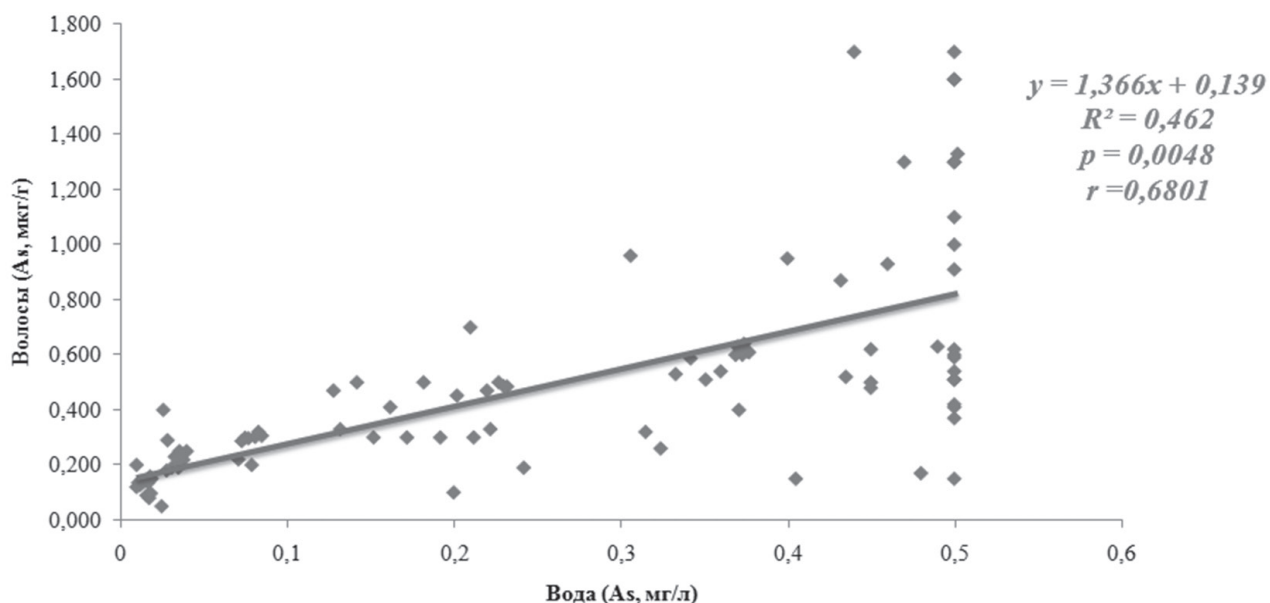


Рис. Зависимость содержанием мышьяка в волосах обследованных лиц от его концентрации в потребляемой питьевой воде.

в воде на 0,1 мг/л содержание мышьяка в волосах возрастает на 0,14 мкг/г.

Выводы.

1. Численность населения исследованной территории северной части республики Дагестан, использующего артезианскую воду с превышением нормативной величины мышьяка (0,01 мг/л), достигает 309,7 тыс. человек. Концентрации мышьяка колеблются в пределах 0,01- 0,5 мг/л. В 97 % образцах питьевой воды превышен гигиенический норматив 0,01 мг/л.

2. Индивидуальный канцерогенный риск для населения районов Северного Дагестана находится в диапазоне от $4,3E-4$ до $2,1E-2$, при среднем значении содержания мышьяка (0,19 мг/л) – $8,14E-03$, т.е. выше приемлемого и недопустим для населения. При сохраняющихся уровнях концентрации мышьяка в питьевой воде 0,01-0,5 мг/л популяционные канцерогенные риски составят для экспонированного населения численностью 309,7 тыс. человек:

- при наиболее низких (0,01-0,5 мг/л) и высоких (0,4 – 0,5 мг/л) концентрациях мышьяка от 2 до 95 дополнительных случаев рака в год;

- при среднем уровне содержания мышьяка (0,19 мг/л) – 36 дополнительных случаев заболеваний в год.

3. Результаты определения мышьяка в волосах подтверждают предположение о его кумуляции в организме вследствие хронической пероральной экспозиции. Была выявлена достоверная корреляция между уровнем содержания мышьяка в воде и волосах экспонированного населения. Среди 57,7% обследованных лиц, содержание мышьяка в волосах составляет менее 0,5 мкг/г; у 32% – в пределах 0,5-0,9 мкг/г и у 10,3% обследованных выше 1,0 мкг/г (выше порогового значения в волосах при котором могут наблюдаться симптомы арсенозов).

4. Необходим постоянный мониторинг качества питьевых вод по содержанию мышьяка; проведение углубленных эпидемиологических исследований в районах, приуроченных к артезианскому бассейну; инвентаризация существующих артезианских скважин и организация их зон санитарной охраны; обеспечение режима эксплуатации самоизливающихся артезианских скважин; разработка технологий очистки питьевых вод от мышьяка, оптимальных для региональных особенностей территории, эффективных, экономически выгодных и удобных в эксплуатации для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Курбанов М.К. Геотермальные и гидроминеральные ресурсы Восточного Кавказа и Предкавказья. - М.: Наука, МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. - 260с.
2. Курбанов М.К. Северо-Дагестанский артезианский бассейн. Махачкала: Дагкнигиздат, 1969. 92с.
3. Шагоянц С.А. Подземные воды Центральной и Восточной частей Северного Кавказа и условия их формирования. - М.: Госгеолтехиздат, 1959. - 306 с.
4. Hall A.H. Chronic arsenic poisoning. // *Toxicol. Lett.* - 2002. - №128. - P.: 69-72.
5. Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS): description of a multidisciplinary epidemiologic investigation. Ahsan H. et al. // *J. Expo Sci Environ Epidemiol.* - 2006. - V.16. - P.:191 - 205.
6. Nordstrom D.K.: Public health. Worldwide occurrences of arsenic in ground water. // *Science.* - 2002. - № 296. - p.:2143-2145.

7. Микроэлементозы человека. Авцын А.П. и др. - М.: Медицина, 1991. - 496с.
8. IARC (International Agency for Research on Cancer). A Review of Human Carcinogens: Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts. Lyon:World Health Organization Press. - 2012. - 527p.-Available at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/>
9. Авалиани С.Л., Балбус Дж., Голуб А.А. и др. Управление окружающей средой на основе методологии анализа риска. (Учебное пособие). ГУ - Высшая школа экономики. М.: Теис. 2010. - 215 с.
10. Авалиани С.Л., Безпалько Л.Е., Бобкова Т.Е., Мишина А.Л. Перспективные направления развития методологии анализа риска в России. // Гигиена и санитария. -2013. -№1. - С.: 33-35.
11. Авалиани С.Л., Новиков С.М., Шашина Т.А., Додина Н.С., Кислицын В.А., Мишина А.Л. Проблемы совершенствования системы управления качеством окружающей среды на основе анализа риска здоровью населения.//

Гигиена и санитария. -2014. - № 6. - С.:5-8.
12. Авалиани С.Л., Ревич Б.А., Захаров В.М. Мониторинг здоровья человека и здоровья среды (Региональная экологическая политика). - М.: Центр экологической политики России. - 2001. - 76 с.
13. Егорова Н.А., Красовский Г.Н. Гармонизация гигиенических нормативов с зарубежными требованиями к качеству питьевой воды. // Гигиена и санитария. - 2005. - №2. - С. 10-13.
14. Новиков С.М., Шашина Т.А., Унгуриян Т.Н., Иванова С.В. Актуальные проблемы в системе государственного регулирования химической безопасности. // Гигиена и санитария. -2013. - № 4. - С: 19-23.
15. Современные проблемы оценки рисков и ущербов здоровью от воздействия факторов окружающей среды. Новиков С.М. и др. // Гигиена и санитария. -2007. - № 5. - С.:18-20
16. Новиков С.М., Фокин М.В., Унгуриян

Т.Н. Актуальные вопросы методологии и развития доказательной оценки риска здоровью населения при воздействии химических веществ. // Гигиена и санитария. -2016. - № 8. - С.: 711-716.
17. Оценка ущерба здоровью человека как одно из приоритетных направлений экологии человека и инструмент обоснования управленческих решений. Рахманин Ю.А. и др. // Гигиена и санитария. - 2006. - №5. - С.: 10 - 13.
18. ISO 17278-2:2014 Water quality – Determination of arsenic and antimony – Part 2: Method using hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS).
19. International standards for drinking-water. 3rd ed. Geneva: WHO. - 1971.- 70p.
20. Гигиенические нормативы. Предельно допустимы концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. ГН 2.1.5.1315-03 (с изменениями и дополнениями). Утверждены Гл. Гос. сан. врачом РФ 27.04.03

REFERENCES:

1. Kurbanov M. K. Geothermal and hydromineral resources of the Eastern Caucasus and the Caucasus. - M.: Nauka, MAIK "Nauka / Interperiodika", 2001. - 260 p. (in Russian).
2. Kurbanov M. K. North Dagestan artesian basin. Makhachkala: Dagknigizdat, 1969. - 92 p. (in Russian).
3. Shagoyants S. A. Underground waters of the Central and Eastern parts of the North Caucasus and conditions of their formation. - M.: Gosgeoltekhizdat, 1959. - 306 p. (in Russian).
4. Hall A. H. Chronic arsenic poisoning. *Toxicol. Lett.*, 2002. - No. 128. - Pp. 69-72.

5. Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS): description of a multidisciplinary epidemiologic investigation. Ahsan H. et al. *J. Expo Sci Environ Epidemiol.*, 2006. - V. 16. - Pp. 191 - 205.
6. Nordstrom D. K.: Public health. Worldwide occurrences of arsenic in ground water. *Science*, 2002. - No. 296. - Pp. 2143 - 2145.
7. Avtsyn A. P. et al. Human trace elements. - M.: Medicine, 1991. - 496 p. (in Russian).
8. IARC (International Agency for Research on Cancer). A Review of Human Carcinogens: Arsenic, Metals, Fibres, and

Dusts. Lyon: World Health Organization Press. - 2012. - 527 p. - Available at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/>
9. Avliani S.L., Balbus J., Golub A.A. et al. Environmental management based on risk analysis methodology. - Higher School of Economics. Moscow: TELS. 2010. - 215 p. (in Russian).
10. Avliani S.L., Bezpal'ko L.E., Bobkova T.E., Mishina A.L. Perspective directions of development of risk analysis methodology in Russia. *Hygiene and Sanitation*, 2013. - No. 1. - Pp. 33-35. (in Russian).
11. Avliani S.L., Novikov S.M., Shashina T.A., Dodina N.S., Kisilitsyn V.A., Mishina

A.L. Problems of improvement of the environmental quality management system on the basis of risk analysis to public health. *Hygiene and Sanitation*, 2014. - No. 6. - Pp. 5-8. (in Russian).
12. Avliani S.L., Revich B.A., Zakharov V.M. Monitoring of human health and environmental health (Regional environmental policy). - M.: Center for environmental policy of Russia, 2001.-76 p. (in Russian).
13. Egorova N.A., Krasovsky G.N. Harmonization of hygienic standards with foreign requirements for drinking water quality. *Hygiene and Sanitation*, 2005. - No. 2. - Pp. 10 - 13. (in Russian).

14. Novikov S.M., Shashina T.A., Khamidulina Kh.Kh., Skvortsova N.S., Ungureanu T.N., Ivanova S.V. Actual problems in the system of state regulation of chemical safety. Hygiene and Sanitation, 2013. - No. 4. - Pp. 19-23. (in Russian).
15. Current problems in assessment of risks and damages to health from exposure to environmental factors. Novikov S. M. et al. Hygiene and Sanitation, 2007. - No. 5. - Pp. 18-20. (in Russian).
16. Novikov S.M., Fokin M.V., Ungureanu T.N. Actual issues of methodology and development of evidence - based assessment of public health risk when exposed to chemicals. Hygiene and Sanitation, 2016. - No. 8. - Pp. 711-716. (in Russian).
17. Rakhmanin Yu.A. et. al. Assessment of damage to human health as one of the priority areas of human ecology and a tool to justify management decisions. Hygiene and Sanitation, 2006. - No. 5. - Pp. 10 - 13. (in Russian).
18. ISO 17278-2:2014 Water quality - Determination of arsenic and antimony - Part 2: Method using hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS).
19. International standards for drinking-water. 3rd ed. Geneva: WHO. - 1971. - 70p.
20. Health standards. Maximum permissible concentration (MPC) of chemicals in the water of water bodies of drinking and cultural water use. GN 2.1.5.1315-03 (in Russian).

T.O. Abdulmutalimova

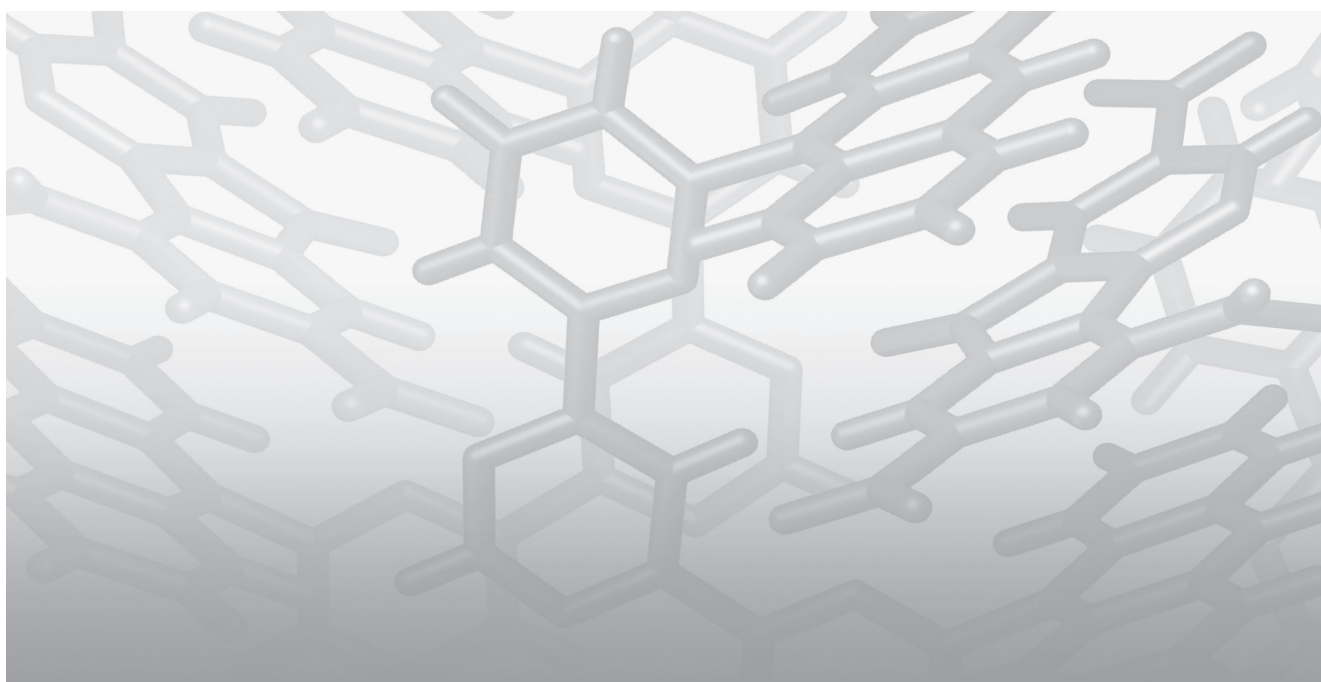
ASSESSMENT OF CARCINOGENIC RISK TO PUBLIC HEALTH WHEN USING GROUNDWATER WITH HIGH ARSENIC CONTENT AS SOURCES OF DRINKING WATER SUPPLY ON THE EXAMPLE OF THE REPUBLIC OF DAGESTAN

Institute of Geology of the Dagestan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 367030, Makhachkala, Russian Federation

Hygienic assessment of drinking groundwater used for drinking water supply by the population of the Northern part of the Republic of Dagestan for several decades has been carried out. The content of arsenic in drinking water sources was found to be up to 50 times higher than the permissible WHO standard. The use of regional factors of water consumption allowed to calculate individual and population carcinogenic risks to the population during long-term use of groundwater for drinking water supply. It was shown that the individual carcinogenic risk was $4,3E-4$ at the minimum concentration of $0,01$ mg/L; $2,1E-2$ at the maximum concentration of $0,5$ mg/L, and $6,0E-3$ at the average value of $0,14$ mg/L, respectively. The identified levels of lifetime individual carcinogenic risks (over 70 years) exceed the «acceptable» (target) level of 10^{-5} and are assessed as unacceptable for the preservation of public health. For the exposed population of the studied regions of Northern Dagestan (309,7 thousand) the values of population annual carcinogenic risks, reflecting the additional (to the background) number of cases of malignant neoplasms that can occur during the year, ranged from 1 to 95 cases. The results of this study allowed to identify areas with high levels of arsenic in drinking water and to identify the exposed part of the population for the implementation of measures to reduce the risk. To assess the population's exposure and establish a link between exposure to arsenic and its accumulation in humans, the biomonitoring has been conducted, the results of which allowed to identify the correlation between arsenic content in hair of residents and its exhibited content in consumed drinking water.

Keywords: arsenic, groundwater, drinking water, carcinogenic risk.

Материал поступил в редакцию 04.04.2019 г.



УДК 615.246.9 : 577.21 : 547.412.723

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *HMOX1* В ПЕЧЕНИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВЫМ ГЕПАТИТОМ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ

Г.Ф. Мухаммадиева,
Д.О. Каримов,
А.Б. Бакиров,
Т.Г. Кутлина,
Я.В. Валова,
Э.Р. Кудояров,
Н.Ю. Хуснутдинова

ФБУН «Уфимский НИИ
медицины труда и экологии
человека», 450106, г. Уфа,
Российская Федерация

В статье представлено сравнительное влияние гепатопротекторных препаратов (гептрал, мексидол и метилурацил) на экспрессию гена *Hmox1* при токсическом поражении печени, индуцированном тетрахлорметаном (CCl_4). Исследования проведены на 70 самцах белых беспородных крыс. Изменения в экспрессии гена *Hmox1* имели более выраженный характер через 72 ч после введения CCl_4 . Однако под влиянием препаратов изменения кратности экспрессии в наибольшей степени отмечались через 24 ч. Экспрессия гена *Hmox1* возрастала в ответ на все указанные обработки. Наиболее выраженный ответ был получен при использовании оксиметилурацила. Таким образом, в условиях токсического действия CCl_4 гепатопротекторные препараты усиливали защитно-адаптационные механизмы, индуцируя активность и экспрессию гена *Hmox1*.

Ключевые слова: токсическое поражение печени, тетрахлорметан, экспрессия генов, гепатопротекторы.

Введение. Токсические поражения печени занимают значительное место в общей структуре заболеваний и являются достаточно широко распространенной патологией как в России, так и за рубежом [1]. Одной из наиболее распространенных причин данных заболеваний являются воздействия гепатотоксических агентов различного происхождения, вызывающих той или иной степени выраженности морфологические изменения ткани печени и связанные с ними обменные нарушения. Для моделирования поражения печени у животных широко используется тетрахлорметан (CCl_4), который способен инициировать в печени оксидативный стресс, белковую и жировую дистрофию гепатоцитов [2, 3]. Известно, что

CCl_4 вызывает некроз печени [4, 5]. При этом некоторые исследования предполагают, что CCl_4 вызывает не только некроз, но также может индуцировать апоптоз гепатоцитов [6, 7]. Значительное распространение получила гипотеза активации апоптоза в условиях умеренных токсических воздействий, недостаточных для развития некроза. На примере действия CCl_4 на клетки печени было показано, что низкие дозы данного токсиканта инициируют апоптоз [8].

В связи с низкой эффективностью современных методов лечения токсических поражений печени, а также малой изученностью молекулярных механизмов этих заболеваний значительный интерес представляет поиск средств,

Мухаммадиева Гузель Фанисовна (Mukhammadieva Guzel Fanisovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», ufniimt@mail.ru

Каримов Денис Олегович (Karimov Denis Olegovich), кандидат медицинских наук, заведующий отделом токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», karimovdo@gmail.com

Бакиров Ахат Бариевич (Bakirov Akhat Barievich), доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», fbun@uniimtech.ru

Кутлина Татьяна Георгиевна (Kutlina Tatyana Georgievna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», tanya.kutlina.92@mail.ru

Валова Яна Валерьевна (Valova Yana Valeryevna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Q.juk@yandex.ru

Кудояров Эльдар Ренатович (Kudoyarov Eldar Renatovich), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e.kudoyarov@yandex.ru

Хуснутдинова Надежда Юрьевна (Khusnutdinova Nadezhda Yurevna), научный сотрудник отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», h-n-yu@yandex.ru

увеличивающих резистентность печени к патологическим воздействиям и усиливающих ее обезвреживающие функции путем повышения активности ее ферментных систем, а также способствующих восстановлению ее функций при различных повреждениях. Существенна роль так называемых гепатопротекторов – препаратов, защищающих печень от повреждающего воздействия экзогенных или эндогенных факторов и/или ускоряющих ее нормальную регенерацию. Возможно, среди них особое внимание стоит уделить таким препаратам, как гептрал, мексидол и метилурацил. Ранее полученные на экспериментальных моделях результаты свидетельствуют об антиоксидантном эффекте данных препаратов при поражении печени [9-11].

В последнее время внимание ученых привлекает исследование особых микросомальных ферментов – гемоксигеназ, способных активировать как защитно-адаптационные механизмы, так и деструктивно-патологические [12]. Гемоксигеназная система играет ведущую роль в поддержании функционального и структурного гомеостаза печени. Имеются данные о том, что экспрессия гемоксигеназы может быть индуцирована с помощью многих агентов, в том числе CCl_4 . Ранее было отмечено, что гемоксигеназа-1 индуцируется в печени крыс, получавших CCl_4 . Так, введение CCl_4 приводило к заметному усилению активности фермента гемоксигеназы-1 в печени крыс [13]. Также в опытах на крысах CCl_4 -индуцированное повреждение печени сопровождалось повышением экспрессии в ней гемоксигеназы-1 [14, 15]. Исследования показывают, что гемоксигеназы способны ингибировать апоптоз клеток печени, однако до конца молекулярный механизм действия этих ферментов не ясен [16].

Цель исследования – изучение экспрессии гена *Hmox1* в печени крыс, подвергнутых воздействию препаратов гептрал, мексидол и метилурацил в условиях экспериментального токсического гепатита.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили на 70 самцах белых беспородных крыс массой 170–190 г. Использование животных в эксперименте проводилось в соответствии с правилами, регламентированными законодательством Российской Федерации и рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов в научных или иных целях. В качестве гепатопротекторных средств были изучены препараты: гептрал, мексидол и метилурацил. Крысы были разделены на пять групп по 7 особей в каждой:

1-я группа – контрольная; животным подкожно вводили 1 мл оливкового масла;

2-я группа – животные, которым подкожно вводили 50% масляный раствор тетрахлорметана в дозе 2 г/кг;

3-я группа – животные, которым наряду с тетрахлорметаном вводили внутривенно гептрал 8% раствор в дозе 0,9 мг/кг;

4-я группа – животные, которым наряду с тетрахлорметаном вводили подкожно мексидол 1,25% раствор в дозе 1 мг/кг;

5-я группа – животные, которым наряду с тетрахлорметаном вводили перорально оксиметилурацил 0,5% раствор в дозе 50 мг/кг.

Все препараты вводили крысам за 1 час до применения CCl_4 . Через 24 и 72 ч после введения CCl_4 животных декапитировали и извлекали печень.

Суммарную РНК выделяли из замороженных, измельченных в жидком азоте образцов печени с использованием реагента ExtractRNA («Евроген», Россия) согласно инструкции производителя. Реакцию обратной транскрипции и получение кДНК на основе выделенной РНК производили с помощью набора MMLV RT kit и праймеров олиго(dT)15 («Евроген», Россия). Для оценки экспрессии гена *Hmox1* проводили полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) на амплификаторе Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия).

Все статистические расчеты производили с помощью программного пакета IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM, США). Использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. На рисунке представлены результаты анализа экспрессии гена *Hmox1* в печени крыс с CCl_4 -индуцированным токсическим гепатитом, получавших препараты гептрал, мексидол и метилурацил, и которые выводились из эксперимента через 24 и 72 ч после затравки.

Через 24 ч после воздействия CCl_4 можно отметить незначительное повышение кратности экспрессии гена *Hmox1* по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$). Введение CCl_4 и последующее применение гепатопротекторов способствовало нарастанию уровня экспрессии гена *Hmox1* относительно группы крыс, получавших только CCl_4 , однако разные препараты вызывали разное по величине усиление экспрессии *Hmox1*. Наиболее выраженный ответ был получен при использовании оксиметилурацила, кратность экспрессии гена *Hmox1* составила 1,52 ($p = 0,011$). При этом уровень экспрессии гена *Hmox1* у животных, получавших мексидол, составил 1,35 и достоверно отличался от показателя у крыс, получавших только CCl_4 ($-0,05$) ($p = 0,029$). Наименьший показатель экспрессии (0,64) оказался в группе животных, которым в сочетании с CCl_4 вводили гептрал ($p = 0,535$).

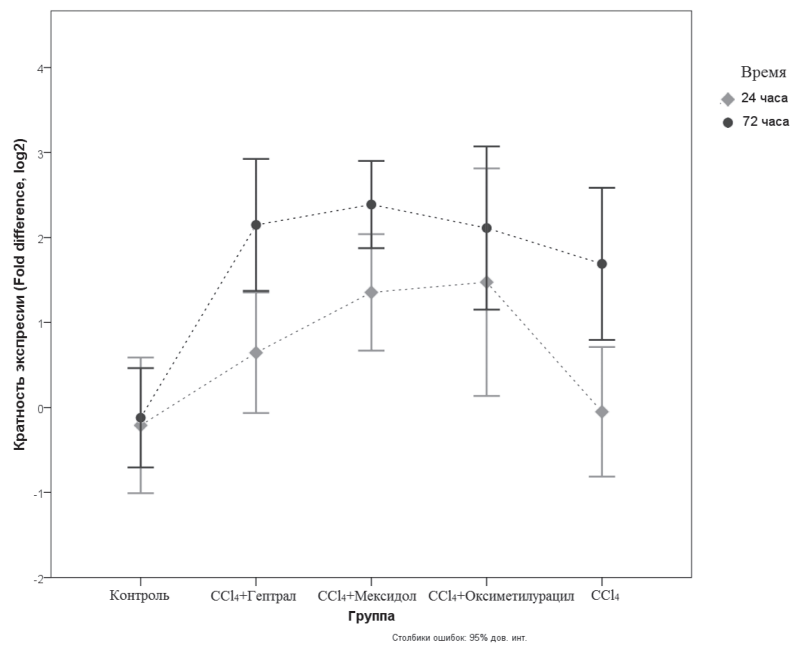


Рис. Влияние гептрала, мексидола и оксиметилурацила на экспрессию гена *Hmox1* в печени крыс на фоне поражения тетрахлорметаном

Через 72 ч после введения CCl_4 кратность экспрессии гена *Hmox1* резко увеличилась относительно контрольного уровня и составила 1,89, что является статистически значимым результатом ($p=0,0001$). При использовании всех трех гепатопротекторных препаратов каких-либо существенных изменений по сравнению с группой, получавшей только CCl_4 не обнаруживалось. Наблюдалось незначительное повышение экспрессии исследуемого гена ($p>0,05$). При этом отмечено практически одинаковое влияние препаратов на уровень экспрессии гена *Hmox1*: кратность экспрессии у крыс, получавших гептрал, мексидол и оксиметилурацил составила 2,15; 2,39 и 2,11 соответственно.

Известно, что наиболее выраженные структурные изменения в печени после введения CCl_4 развиваются на третьи сутки эксперимента. В ответ на это повреждение запускаются механизмы клеточной и внутриклеточной регенерации. Как следствие окислительного стресса можно расценивать обнаруженное возрастание в печени крыс активности гемоксигеназы через 72 ч после введения CCl_4 . Однако под влиянием гепатопротекторных препаратов основные изменения уровня экспрессии гена *Hmox1* наблюдались в первые сутки. Под воздействием препаратов очевидно повышение кратности экспрессии исследуемого гена, особенно это сильнее выражено при использовании мексидола и оксиметилурацила. Положительное влияние гепатопротекторов на экспрессию гена *Hmox1* подтверждено рядом исследований [17]. Кроме того, согласно опубли-

кованным данным, оксиметилурацил оказывает гепатозащитный эффект, ограничивая выраженность некроза и сохраняя метаболизм печени крыс за счет положительного влияния на состояние перекисно-антиперекисной системы [18]. При экспериментальном токсическом гепатите у крыс установлено гепатопротекторное действие мексидола, что выражается в улучшении биохимических и морфологических показателей [19]. Через 72 ч применение гепатопротекторных препаратов способствовало дальнейшему увеличению кратности экспрессии гена *Hmox1*, но исследуемые показатели статистически достоверно не отличались от таковых во всех трех группах препаратов. Возможно полученный результат связан с тем, что реакция на введение гепатопротекторов развивается в большей степени в течение первых суток.

Повышение активности гемоксигеназы-1 может быть связана с окислительным стрессом, в том числе вызванным CCl_4 , что, возможно, представляет собой один из механизмов сохранения структурно-функциональной целостности органа [13, 20]. Индукция гемоксигеназы-1 способствует снижению интенсивности окислительных процессов, ингибирует синтез провоспалительных и стимулирует выработку противовоспалительных цитокинов [21]. В связи с этим регуляция функциональной активности гемоксигеназной системы рассматривается как механизм возможного лечения различных патологических состояний. Цитопротекторное, противовоспалительное и антиоксидантное действие многих соединений через индукцию ге-

моксигеназы-1 было подтверждено в ряде исследований [12, 22, 23].

Заключение. Обобщая полученные результаты, можно заключить, что при токсическом поражении печени, индуцированном тетрахлорметаном, введение гепатопротекторов, возможно, усиливало защитно-адаптационные механизмы, повышая активность гена *Hmox1*. Однако необходимы дальнейшие ис-

следования для получения данных, характеризующих выраженность воспалительных процессов и окислительных повреждений тканей печени, равно как и их корреляцию с активностью гена *Hmox1*, а также по оценке влияния гепатопротекторов на транскрипционную активность других генов, которые позволят более детально охарактеризовать действие препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Агзамова Г.С., Алиева А.М.* Клинические особенности течения токсических гепатитов и их лечение (обзор литературы). Медицина труда и промышленная экология. 2009; 12: 44-7.
2. *Dai Y., Cederbaum A.I.* Inactivation and degradation of human cytochrome P450E1 by CCl4 in a transfected HepG2 cell line. J Pharmacol Exp Ther. 1995; 275(3): 1614-22.
3. *Шабанов П.Д., Султанов В.С., Лебедев В.А., Бычков Е.Р., Прошин С.Н.* Эффекты полипренольного препарата Ропрен при токсическом поражении печени и головного мозга у крыс: изучение функционального состояния печени, поведения и метаболизма моноаминов в мозге. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2010; 8(3): 7-30.
4. *Limaye P.B., Apte U.M., Shankar K., Bucci T.J., Warbritton A., Mehendale H.M.* Calpain released from dying hepatocytes mediates progression of acute liver injury induced by model hepatotoxicants. Toxicol Appl Pharmacol. 2003; 191(3): 211-26.
5. *Manibusan M.K., Odin M., Eastmond D.A.* Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2007; 25(3): 185-209.
6. *Sun F., Hamagawa E., Tsutsui C., Ono Y., Ogiri Y., Kojo S.* Evaluation of oxidative

- stress during apoptosis and necrosis caused by carbon tetrachloride in rat liver. Biochim Biophys Acta. 2001; 1535(2): 186-91.
7. *Wu Y., Li L., Wen T., Li Y.Q.* Protective effects of echinacoside on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Toxicology. 2007; 232(1-2): 50-6.
8. *Shi J., Aisaki K., Ikawa Y., Wake K.* Evidence of hepatocyte apoptosis in rat liver after the administration of carbon tetrachloride. Am J Pathol. 1998; 153(2): 515-25.
9. *Катикова О.Ю., Рузов В.И., Смирнов Л.Д.* Коррекция мексидолом гепатотоксичности, вызываемой у крыс введением туберкулостатиков. Биомедицинская химия. 2004; 50(6): 600-4.
10. *Рагулина В.А., Покровский М.В., Орлова Е.А., Конопля А.И., Авдеева Е.В., Локтионов А.Л.* Антиоксидантные эффекты производных 3-гидрокси-пиридина в норме и при острой тетрахлорметановой гепатопатии. Кубанский научный медицинский вестник. 2010; 7: 124-7.
11. *Бакиров А.Б., Мышкин В.А., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Гимадиева А.Р., Тимашева Г.В.* и др. Преодоление гепатотоксичности стойких органических загрязнителей: роль антиоксидантов пиримидиновой структуры. Гигиена труда и медицинская экология. 2016; 52(3): 3-18.

12. *Li Volti G., Sacerdoti D., Di Giacomo C., Barcellona M.L., Scacco A., Murabito P.* et al. Natural heme oxygenase-1 inducers in hepatobiliary function. World J Gastroenterol. 2008; 14(40): 6122-32.
13. *Wen T., Guan L., Zhang Y.L., Zhao J.Y.* Dynamic changes of heme oxygenase-1 and carbon monoxide production in acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. Toxicology. 2006; 228(1): 51-7.
14. *Schiaffonati L., Tiberio L.* Gene expression in liver after toxic injury: analysis of heat shock response and oxidative stress-inducible genes. Liver. 1997; 17(4): 183-91.
15. *Nakahira K., Takahashi T., Shimizu H., Maeshima K., Uehara K., Fujii H.* et al. Protective role of heme oxygenase-1 induction in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Biochem Pharmacol. 2003; 66(6): 1091-105.
16. *Petrache I., Otterbein L., Alam J., Wiegand G.W., Choi A.M.* Heme oxygenase-1 inhibits TNF- α -induced apoptosis in cultured fibroblasts. Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol. 2000; 278(2): 312-9.
17. *Farombi E.O., Surh Y.J.* Heme oxygenase-1 as a potential therapeutic target for hepatoprotection. J Biochem Mol Biol. 2006; 39(5): 479-91.
18. *Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Срубиллин Д.В., Репина Э.Ф., Гимадиева А.Р.,*

- Габдрахманова И.Д.* Защита печени оксиметилурацилом и производными янтарной кислоты при воздействии в эксперименте тетрахлорметана. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2017; 61(3): 97-102.
19. *Фарашук Н.Ф.* Мексидол и гепатит: результаты в эксперименте и перспективы в клинике. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2006; Прил. 1: 242-9.
20. *Randle L.E., Goldring C.E., Benson C.A., Metcalfe P.N., Kitteringham N.R., Park B.K.* et al. Investigation of the effect of a panel of model hepatotoxins on the Nrf2-Keap1 defence response pathway in CD-1 mice. Toxicology. 2008; 243(3): 249-60.
21. *Abraham N., Kappas A.* Pharmacological and clinical aspects of Heme Oxygenase. Pharm. reviews. 2008; 60(1): 79-127.
22. *Primiano T., Kensler T.W., Kuppusamy P., Zweier J.L., Sutter T.R.* Induction of hepatic heme oxygenase-1 and ferritin in rats by cancer chemopreventive dithiolethiones. Carcinogenesis. 1996; 17(11): 2291-6.
23. *Upadhyay S., Dixit M.* Role of Polyphenols and Other Phytochemicals on Molecular Signaling. Oxid Med Cell Longev. 2015; 2015: 504253.

REFERENCES:

1. *Agzamova G.S., Alieva A.M.* Clinical features of toxic hepatitis and its treatment (literature review). Occupational Medicine and Industrial Ecology, 2009. No. 12. - Pp. 44-47 (in Russian).
2. *Dai Y., Cederbaum A.I.* Inactivation and degradation of human cytochrome P450E1 by CCl4 in a transfected HepG2 cell line. J Pharmacol Exp Ther. 1995; 275(3): 1614-22.
3. *Shabanov P.D., Sultanov V.S., Lebedev V.A., Bychkov E.R., Proshin S.N.* Effects of the polyphenol drug Roprenol in toxic liver and brain damage in rats: study of the functional state of the liver, behavior and metabolism of monoamines in the brain. Reviews of clinical pharmacology and drug therapy, 2010. - Vol. 8. - Iss. 3. - Pp. 7-30 (in Russian).
4. *Limaye P.B., Apte U.M., Shankar K., Bucci T.J., Warbritton A., Mehendale H.M.* Calpain released from dying hepatocytes mediates progression of acute liver injury induced by model hepatotoxicants. Toxicol Appl Pharmacol. 2003; 191(3): 211-26.
5. *Manibusan M.K., Odin M., Eastmond D.A.* Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2007; 25(3): 185-209.
6. *Sun F., Hamagawa E., Tsutsui C., Ono Y., Ogiri Y., Kojo S.* Evaluation of oxidative

- stress during apoptosis and necrosis caused by carbon tetrachloride in rat liver. Biochim Biophys Acta. 2001; 1535(2): 186-91.
7. *Wu Y., Li L., Wen T., Li Y.Q.* Protective effects of echinacoside on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Toxicology. 2007; 232(1-2): 50-6.
8. *Shi J., Aisaki K., Ikawa Y., Wake K.* Evidence of hepatocyte apoptosis in rat liver after the administration of carbon tetrachloride. Am J Pathol. 1998; 153(2): 515-25.
9. *Катикова О.Ю., Рузов В.И., Смирнов Л.Д.* Correction with Mexidol hepatotoxicity in rats caused by the introduction of tuberculostatics. Biomedical chemistry, 2004. - Vol. 50. - Iss. 6. Pp. 600-604 (in Russian).
10. *Рагулина В.А., Покровский М.В., Орлова Е.А., Конопля А.И., Авдеева Е.В., Локтионов А.Л.* Antioxidant effects of 3-hydroxypyridine derivatives in normal and acute tetrachloromethane hepatopathy. Kuban Scientific Medical Bulletin, 2010. Vol. 7. - Pp. 124-127 (in Russian).
11. *Бакиров А.Б., Мышкин В.А., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Гимадиева А.Р., Тимашева Г.В.* et al. Overcoming hepatotoxicity of persistent organic pollutants: the role of antioxidants of pyrimidine structure. Occupational Health and Medical Ecology, 2016. - Vol. 52. - Iss. 3. Pp. 3-18 (in Russian).

12. *Li Volti G., Sacerdoti D., Di Giacomo C., Barcellona M.L., Scacco A., Murabito P.* et al. Natural heme oxygenase-1 inducers in hepatobiliary function. World J Gastroenterol. 2008; 14(40): 6122-32.
13. *Wen T., Guan L., Zhang Y.L., Zhao J.Y.* Dynamic changes of heme oxygenase-1 and carbon monoxide production in acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. Toxicology. 2006; 228(1): 51-7.
14. *Schiaffonati L., Tiberio L.* Gene expression in liver after toxic injury: analysis of heat shock response and oxidative stress-inducible genes. Liver. 1997; 17(4): 183-91.
15. *Nakahira K., Takahashi T., Shimizu H., Maeshima K., Uehara K., Fujii H.* et al. Protective role of heme oxygenase-1 induction in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Biochem Pharmacol. 2003; 66(6): 1091-105.
16. *Petrache I., Otterbein L., Alam J., Wiegand G.W., Choi A.M.* Heme oxygenase-1 inhibits TNF- α -induced apoptosis in cultured fibroblasts. Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol. ;2000 9-312 (2)278.
17. *Farombi E.O., Surh Y.J.* Heme oxygenase-1 as a potential therapeutic target for hepatoprotection. J Biochem Mol Biol. 2006; 39(5): 479-91.
18. *Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Срубиллин Д.В., Репина Э.Ф., Гимадиева А.Р.,*

- Габдрахманова И.Д.* Protection of the liver with oxymethyluracil and succinic acid derivatives when exposed to carbon tetrachloride in the experiment. Pathological Physiology and Experimental Therapy, 2017. Vol. 61. - Iss. 3. - Pp. -97 102 (in Russian).
19. *Farashchuk N.F.* Mexidol and hepatitis: experimental results and prospects in the clinic. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2006. - Annex 1. - Pp. 249-242 (in Russian).
20. *Randle L.E., Goldring C.E., Benson C.A., Metcalfe P.N., Kitteringham N.R., Park B.K.* et al. Investigation of the effect of a panel of model hepatotoxins on the Nrf2-Keap1 defence response pathway in CD-1 mice. Toxicology. 2008; 243(3): 249-60.
21. *Abraham N., Kappas A.* Pharmacological and clinical aspects of Heme Oxygenase. Pharm. reviews. ;2008 60-79 (1)60.
22. *Primiano T., Kensler T.W., Kuppusamy P., Zweier J.L., Sutter T.R.* Induction of hepatic heme oxygenase-1 and ferritin in rats by cancer chemopreventive dithiolethiones. Carcinogenesis. ;1996 6-2291 (11)17.
23. *Upadhyay S., Dixit M.* Role of Polyphenols and Other Phytochemicals on Molecular Signaling. Oxid Med Cell Longev. 504253 ;2015 ;2015.

*G.F. Mukhammadieva, D.O. Karimov, A.B. Bakirov, T.G. Kutlina, Ya.V. Valova,
E.R. Kudoyarov, N.Yu. Khusnutdinova*

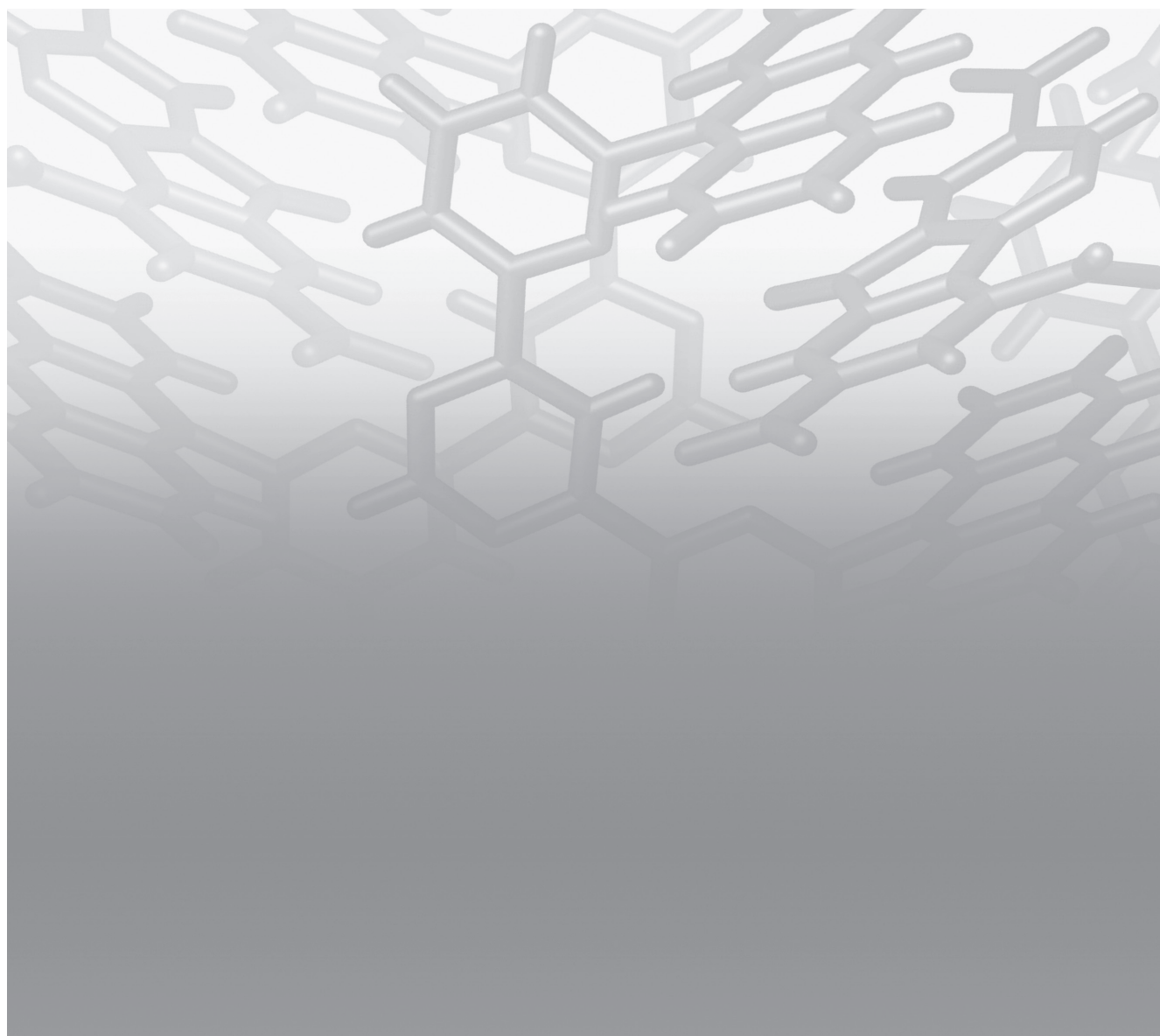
**HMOX1 GENE EXPRESSION IN THE LIVER OF RATS WITH EXPERIMENTAL
TETRACHLOROMETHANE HEPATITIS AND ITS CHANGE UNDER THE INFLUENCE
OF HEPATOPROTECTORS**

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Ufa, Russian Federation

The article presents the comparative effect of hepatoprotective drugs (heptal, mexidol and methyluracil) on the expression of the *HMOX1* gene in toxic liver damage induced by carbon tetrachloride (CCl_4). Studies were performed on 70 male white outbred rats. Changes in the expression of the *HMOX1* gene were more pronounced 72 hours after administration of CCl_4 . However, under the influence of drugs, changes in expression multiplicity were most marked after 24 hours. The expression of the *HMOX1* gene increased in response to all these treatments. The most pronounced response was obtained with the use of oxymethyluracil. Thus, under the toxic action of CCl_4 hepatoprotective drugs enhanced protective and adaptive mechanisms, inducing the activity and expression of the *HMOX1* gene.

Keywords: *toxic liver damage, carbon tetrachloride, gene expression, hepatoprotectors.*

Переработанный материал поступил в редакцию 16.07.2019 г.



УДК 614.7:632.954+547.821

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГИГИЕНИЧЕСКИХ РЕГЛАМЕНТОВ СОДЕРЖАНИЯ ПИКОЛИНАФЕНА В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

В.А. Грынчак, И.И. Ильюкова,
С.И. Сычик

Республиканское унитарное
предприятие «Научно-практический
центр гигиены», Министерство
здравоохранения Республики Беларусь,
220012, г. Минск, Республика Беларусь

На основании доступных литературных данных проведена комплексная токсиколого-гигиеническая оценка пиколинафена, нового малоизученного действующего вещества средств защиты растений, применяемых для избирательного (селективного) уничтожения растений. Согласно принятой классификации пиколинафен может быть отнесен к 3 классу опасности (умеренно опасное соединение) по общетоксическому лимитирующему признаку вредного действия. В результате оценки научно обоснованы гигиенические регламенты действующего вещества в объектах среды обитания человека: ориентировочно безопасный уровень воздействия в воздухе рабочей зоны – 0,6 мг/м³, ориентировочно безопасный уровень воздействия в атмосферном воздухе (с.с.) – 0,004 мг/м³, ориентировочно допустимый уровень в воде водоемов – 0,07 мг/дм³, ориентировочно допустимая концентрация в почве – 0,4 мг/кг, временная допустимая суточная доза – 0,015 мг/кг, а также временный максимально допустимый уровень содержания остаточных количеств пиколинафена в зерне зерновых культур – 0,2 мг/кг.

Ключевые слова: пиколинафен, средства защиты растений, гигиенические регламенты, пищевые продукты.

Введение. В настоящее время среди антропогенных химических загрязнителей производственной и окружающей среды выделяются средства защиты растений, широкое использование которых в сельском хозяйстве обеспечивает повышение урожайности и улучшение качества производимой сельскохозяйственной продукции. В Республике Беларусь, как и во всех развивающихся странах, отмечена тенденция к увеличению использования средств защиты растений, на основе новых малоизученных действующих веществ, одним из которых является пиколинафен, применяемый для избирательного (селективного) уничтожения растений [1–4]. Для безопасного его производства и применения в сельском хозяйстве, а также в соответствии с требованиями международного законодательства [5], на первом этапе необходимо провести токсиколого-гигиеническую оценку и научно обосновать ряд временных гигиенических регламентов, что является основой для предотвращения неблагоприятного влияния средств защиты растений на здоровье работающих и населения, а также на среду обитания [6–9].

В связи с этим целью работы явилось проведение токсиколого-гигиенической оценки и обо-

снование гигиенических нормативов содержания пиколинафена в воде водоемов, воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе, почве и зерне зерновых культур, а также, установить допустимую суточную дозу поступления действующего вещества в организм человека.

Материалы и методы исследования. Проведение токсиколого-гигиенической оценки и расчет нормативов производился в соответствии с действующими техническими нормативно-правовыми актами [5, 10]: ориентировочно безопасный уровень воздействия в воздухе рабочей зоны (ОБУВ в.р.з., мг/м³) [11], ориентировочно безопасный уровень воздействия в атмосферном воздухе (ОБУВ с.с., мг/м³) [12], ориентировочно допустимый уровень в воде водоемов (ОДУ, мг/дм³) [13], ориентировочно допустимая концентрация в почве (ОДК, мг/кг) [14], а также временная допустимая суточная доза (ДСД, мг/кг м.т.человека) и временный максимально допустимый уровень содержания остаточных количеств пиколинафена (МДУ ок, мг/кг) в зерне [15]. Для этого были использованы физические константы (температура кипения (t кип.) 230 °С и плавления (t пл.) 107 °С) и основные токсикометрические параметры изучаемого действующего вещества. Резуль-

Грынчак Виталий Александрович (Hrynychak Vitali Aleksandrovich), младший научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», grinchakva@gmail.com

Ильюкова Ирина Ивановна (Ilyukova Irina Ivanovna), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией профилактической и экологической токсикологии Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», toxlab@mail.ru

Сычик Сергей Иванович (Syčik Sergey Ivanovich), кандидат медицинских наук, доцент, директор Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», rspch@rspch.by

таты обрабатывали общепринятыми методами статистики.

Результаты и обсуждение. На первом этапе нормирования на основании литературных данных проведена комплексная токсиколого-гигиеническая оценка и установлена ДСД, сопоставление которой с суммарной величиной загрязнения объектов среды обитания человека позволит оценить уровень загрязнения пиколинафена как приемлемый и/или недопустимый для состояния здоровья населения. Пиколинафен не проявляет генотоксического потенциала и канцерогенной активности, не тератоген, не обладает избирательной эмбрио- и гонадотоксичностью [16, 17]. Согласно принятой классификации может быть отнесен к 3 классу опасности (ГОСТ 12.1.007-76 [18]).

При определении значения ДСД исходили из величины минимально недействующей (подпороговой) дозы, установленной по результатам хронического эксперимента продолжительностью 12 месяцев на собаках [16], с учетом коэффициента запаса. Подпороговая доза пиколинафена по общетоксическому признаку вредности составила 1,4 мг/кг. Исходя из имеющихся данных, с учетом средней массы человека 50 кг и коэффициента запаса 100, рассчитанная величина ДСД – 0,015 мг/кг.

Одним из важнейших элементов комплексного гигиенического нормирования является разработка ОБУВ действующих веществ средств защиты растений в воздухе рабочей зоны в условиях производства и сельскохозяйственного

применения, в том числе, расчетным методом. Прогнозные значения ОБУВ пиколинафена рассчитывали по формулам, предложенным в методических рекомендациях № 118-0010 [11] для всех групп средств защиты растений (табл. 1).

Результаты анализа полученных значений показали, что наиболее низкое расчетное значение регламента – 0,6 мг/м³. Исходя из этого целесообразно принять ОБУВ пиколинафена в воздухе рабочей зоны в условиях сельскохозяйственного применения равный 0,6 мг/м³ (пары+аэрозоль).

Для прогноза ОДУ в воде водоемов применяли уравнения, отражающие корреляционные связи между этой величиной, установленными токсикологическими параметрами, нормативами в других объектах среды обитания (воздух рабочей зоны), физическими константами (табл. 2).

Максимальная недействующая концентрация (МНК) действующего вещества пиколинафена в воде определялась по формуле: $MNK = ДСД \times A \times M / 100 \times N$, где А – доля препарата, поступающая в организм с водой; М – масса тела человека (кг); N – норма водопотребления человека в течение суток (л).

Минимальное расчетное значение ОДУ пиколинафена – вещества, имеющего санитарно-токсикологический признак вредности, составило 0,03 мг/дм³. Результаты органолептических исследований воды, содержащей пиколинафена на уровне минимального расчетного значения, показали, что запах при 20°C и 60°C отсутствует. Расчетная МНК пиколинафена с учетом водопотребления 3 л/сутки и величины ДСД составила

Таблица 1

Результаты расчетов величин ОБУВ пиколинафена в воздухе рабочей зоны

Формула	Используемый показатель	Итоговое значение ОБУВ в.р.з., мг/м ³
$\lg \text{ОБУВ в.р.з.} = 0,63 \lg LD_{50} - 1,75 + f$	LD ₅₀	3,80
$\lg \text{ОБУВ в.р.з.} = 0,58 \lg LD_{50} - 1,96$	LD ₅₀	1,53
$\lg \text{ОБУВ в.р.з.} = 0,47 \lg LD_{50} + 0,11 \lg LD_{50K} - 2,02$	LD ₅₀ LD _{50K}	1,30
$\lg \text{ОБУВ в.р.з.} = 0,2 \lg LD_{50} - 0,81$	LD ₅₀	0,85
$\lg \text{ОБУВ в.р.з.} = 0,01 \lg LD_{50} + 0,28 \lg LD_{50K} - 1,18$	LD ₅₀ LD _{50K}	0,73
$\lg \text{ОБУВ в.р.з.} = 0,52 \lg LD_{50K} + 0,04 - 2,13$	LD _{50K}	0,68
$\text{ОБУВ в.р.з.} = 0,62 \lg LC_{50} - 1,08$	LD ₅₀	0,60

Таблица 2

Результаты расчетов величин ОДУ пиколинафена в воде водоемов

Формула	Используемый показатель	Итоговое значение ОДУ в воде водоемов, мг/дм ³
$\lg \text{ПДК} = 0,8 \lg \text{LD}_{50} - 0,8 \lg \frac{\text{LD}_{50}}{30 \cdot \text{LC}_{50}} - 0,64$	$\frac{\text{LD}_{50}}{\text{LC}_{50}}$	14,40
$\lg \text{ПДК} = - 4,76 + 1,39 \lg \text{LD}_{50}$	LD_{50}	2,40
$\lg \text{ПДК} = - 0,45 + 0,007 t_{\text{пл.}}$	$t_{\text{пл.}}$	1,99
$\lg \text{ПДК} = - 2,12 + 1,7 \lg \text{LC}_{50}$	LC_{50}	0,15
$\text{ПДК} = - 2,46 + 0,26 \lg \text{LC}_{50} + 0,32 \lg \text{LD}_{50}$	$\frac{\text{LD}_{50}}{\text{LC}_{50}}$	0,08
$\lg \text{ПДК} = 0,61 \lg \text{ОБУВ}_{\text{в.р.з.}} - 1,0$	$\text{ОБУВ}_{\text{в.р.з.}}$	0,07
$\lg \text{ПДК} = 0,85 - 0,01 t_{\text{нип.}}$	$t_{\text{нип.}}$	0,03

Таблица 3

Результаты расчетов величин ОБУВ пиколинафена в атмосферном воздухе

Формула	Используемый показатель	Итоговое значение ОБУВ с.с. ат.в. мг/м ³
$\lg \text{ОБУВ}_{\text{с.с. ат.в.}} = - 6,0 + 1,5 \lg \text{LD}_{50}$	LD_{50}	0,35
$\text{ОБУВ}_{\text{с.с. ат.в.}} = 0,58 \lg \text{LC}_{50} - 1,6$	LD_{50}	0,07
$\lg \text{ОБУВ}_{\text{с.с. ат.в.}} = - 1,77 + 0,62 \lg \text{ОБУВ}_{\text{в.р.з.}}$	$\text{ОБУВ}_{\text{в.р.з.}}$	0,01
$\lg \text{ОБУВ}_{\text{с.с. ат.в.}} = - 0,7 + 1,7 \lg \text{LC}_{50} - 0,8 \lg \text{LD}_{50}$	$\frac{\text{LC}_{50}}{\text{LD}_{50}}$	0,004

0,06 мг/дм³. На основании сопоставления и сравнительной оценки прогнозного значения ОДУ, выводов по результатам органолептических исследований ориентировочно допустимая концентрация пиколинафена в воде водоемов установлена по санитарно-токсикологическому критерию вредности на уровне 0,03 мг/дм³. МНК при этом в 2 раза превышает норматив, что свидетельствует в пользу надежности последнего [13]. При данной величине норматива в организм человека с водой может поступить 0,09 мг пиколинафена, что составит 10,0 % от допустимого суточного поступления для человека.

Обоснование ОБУВ соединения в атмосферном воздухе населенных мест проводили по рас-

четам, учитывающим основные параметры токсичности и величину ОБУВ в.р.з. в соответствии с методическими указаниями № 11-7-2-97 [12] (табл. 3).

ОБУВ пиколинафена в атмосферном воздухе установлен на уровне расчетного значения – 0,004 мг/м³ (преимущественное агрегатное состояние пары+аэрозоль). При данной величине ОБУВ в организм человека с атмосферным воздухом может поступить 0,08 мг пиколинафена, что составит 8,9 % от допустимого суточного поступления для человека.

Обоснование МДУ ок пиколинафена в продуктах питания проводили в соответствии с действующими рекомендациями [15]. С пищевым раци-

Таблица 4

Результаты расчетов величин ОДК пиколинафена в почве

Формула	Используемый показатель	Итоговое значение ОДК в почве, мг/кг
$ОДК = - 0,0143 + 1,539 \sqrt{МДУ}$	МДУ	0,67
$ОДК = 0,778 + 0,285 \lg МДУ$	МДУ	0,57
$ОДК = 0,196 + 1,824 \cdot МДУ$	МДУ	0,56
$ОДК = 0,151 + 2,482 \sqrt{ДСД}$	ДСД	0,45
$ОДК = 0,739 + 0,161 \lg ДСД$	ДСД	0,44
$ОДК = 0,225 + 13,67 \cdot ДСД$	ДСД	0,40

Таблица 5

Вероятное поступление пиколинафена в организм человека с пищей, водой и воздухом

Продукты, среда	Гигиенический регламент	Удельное значение суточного поступления	Вероятное поступление	
			мг/чел./сутки	% от ДСП
Пищевые продукты: зерновые культуры (зерно)	0,2 мг/кг	0,02 кг	0,076	8,4
Вода	0,03 мг/дм ³	3 дм ³	0,09	10,0
Атмосферный воздух	0,004 мг/м ³	20 м ³	0,08	8,9

оном в организм человека может поступить до 70 % остаточных количеств средства защиты растений, обнаруженного во всех средах. В этом случае расчетное безопасное поступление пиколинафена, поступающего с пищевыми продуктами, составит 0,63 мг/чел./сутки. МДУ ок для зерновых (зерно) установлен на уровне 0,2 мг/кг, возможное поступление действующего вещества в организм человека, учитывая норму среднесуточного потребления 380 г, составит 0,076 мг/чел./сутки.

Расчет ОДК пиколинафена в почве проводили в соответствии с методическими рекомендациями № 127-0010 [14] по величине ДСД и МДУ в пищевой продукции (табл. 4).

Полученное минимальное расчетное значение составило 0,4 мг/кг, что позволяет рекомендовать эту величину в качестве ОДК пиколинафена в почве. По формуле рассчитана концентрация действующего вещества в почве, которая прогнозируется при максимальной норме расхода препаративной формы средства защиты растений на его основе: $C = P \times K / 200 = 0,0175$, где P – максимальная норма расхода препарата, л/га; K – концентрация пиколинафена в препарате, %.

Следовательно, рассчитанное значение ОДК пиколинафена в почве 0,4 мг/кг в 22 раз выше содержания, прогнозируемого при максимальной норме расхода препарата (2,5 л/га), что свидетельствует о невозможности превышения гигиениче-

ского норматива при соблюдении максимальной нормы расхода препарата.

Возможное суточное поступление пиколинафена в организм человека, равное 0,076 мг/чел/сут., не превышает расчетного безопасного поступления с пищевыми продуктами 0,63 мг/чел./сутки. При допустимом суточном поступлении (ДСП) 0,9 мг/чел./сутки возможное суточное поступление пиколинафена в организм человека составит с пищевыми продуктами 0,076 мг (8,4 % от ДСП), с водой 0,09 мг (10,0 % от ДСП), воздухом 0,08 мг (8,9 % от ДСП), в сумме 27,3 % от ДСП (табл. 5).

Все рассчитанные гигиенические регламенты позволяют контролировать аналитический

метод определения пиколинафена в воде, почве, воздухе, растительных материалах [19].

Заключение. Таким образом, проведена токсиколого-гигиеническая оценка и обоснованы гигиенические регламенты пиколинафена в объектах среды обитания человека: ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,6 мг/м³, ОБУВ в атмосферном воздухе (с.с.) – 0,004 мг/м³, ОДУ в воде водоемов – 0,07 мг/дм³, ОДК в почве – 0,4 мг/кг, временная ДСД мг/кг массы тела в сутки – 0,015 мг/кг, а также временный МДУ остаточных количеств изучаемого действующего вещества в зерне зерновых культур – 0,2 мг/кг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Илюкова И.И., Грынчак В.А., Анисович М.В., Попель А.А., Васильева М.М. Особенности определения эквивалентности генерических пестицидных продуктов. Здоровье и окружающая среда. 2016; 26: 225-228.
2. Бэнджел Брестон Л., Сачиви Норберт М. Гербицидные композиции, содержащие 4-амино-3-хлор-6-(4-хлор-2-фтор-3-метоксифенил)-5-фторпирidin-2-карбоновую кислоту или ее производные и флуртамон, дифлуфеникан или пиколинафен. Патент РФ, N 2644180; 2018.
3. Ханер Эрвин, Бирингер Херманн, Хуфф Ханс Филипп. Гербицидная комбинация синергетического действия и способ борьбы с сорными растениями. Патент РФ, N 2344601; 2009.
4. Коршун О.М., Липавская А.А., Рудая Т.В. Аналитическое обеспечение гигиенического контроля за применением гербицидов на основе пиколинафена. Научный обзор. 2015; 15 (5): 46-53.
5. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). Гл. II, разд. 15. Требования к пестицидам и агрохимикатам: 983-1070.
6. Власенко Е.К., Сычик С.И. Методологические аспекты токсиколого-гигиенической оценки регуляторов роста растений. Тр. Белорус. гос. ун-та. Физиол., биохим. и молекуляр. основы функционирования биосистем. 2016; 11 (1): 42-63.
7. Кожуро Ю.И., Анисович М.В., Афонин В.Ю. Влияние триазиновых гербицидов симазина и семерона на клетки лейкоцитарного ряда пойкилотермных животных. Вести БГУ. Серия 2. 2014; 2: 40-44.
8. Власенко Е.К., Грынчак В.А., Попель А.А., Кисель М.А. Научное обоснование максимально допустимых уровней содержания гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в продовольственном сырье и разработка методики его определения в объектах среды обитания человека. Здоровье и окружающая среда. 2016; 26: 217-221.
9. Власенко Е.К., Стельмах В.А., Илюкова И.И., Кремко Л.М., Грынчак В.А. Научное обоснование ряда гигиенических регламентов содержания гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в объектах среды обитания человека. Здоровье и окружающая среда. 2015; 25 (2): 82-87.
10. Инструкция № 1.1.11-12-35-2004.

Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ. Минск, 2004.

11. Методические рекомендации № 118-0010. Экспериментальное обоснование и расчет ОБУВ вредных веществ в воздухе рабочей зоны. Минск, 2010.
12. Методические указания по установлению ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) и класса опасности загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест № 11-7-2-97. Минск, 1998.
13. Методические указания по применению расчетных и экспресс-экспериментальных методов при гигиеническом нормировании химических соединений в воде водоемов № 1943-78. М., 1979.
14. Методические рекомендации № 127-0010. Ускоренное гигиеническое регламентирование экзогенных химических веществ в почве. Минск, 2000.
15. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов № 4263-87. Киев, 1988.
16. Pest Management Regulatory Agency de réglementation de la antiparasitaire Regulatory Note REG2003-02 (2003).

- Available at: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&ved=2ahUKewiY5NDJpevkAhUjy6YKHRVfCk4QFjAEegQIBRAC&url=https%3A%2F%2Fwww.fluoridealert.org%2Fwp-content%2Fpesticides%2Fpicolinafen.canada.feb.2003.pdf&usq=A0Vaw1tZqLIET_K3ES5yU8cbp4 (доступ 24.09.2019).
17. Evaluation of the new active PICOLINAFEN in the products SNIPER HERBICIDE & PARAGON HERBICIDE (2000). Available at: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=6&ved=2ahUKewjdxfbW603KAhUKCZoKHcjQDWEQJAFegQIARAC&url=https%3A%2F%2Fapvma.gov.au%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fpublication%2F13896-prs-picolinafen.pdf&usq=A0Vaw1k2bK1m4YqagoF-jtq9jh> (доступ 23.09.2019).
 18. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. Минск, 2008.
 19. Методика определения пиколинафена действующего вещества препарата «МАРАФОН ПЛЮС, ИС» в воде, почве, воздухе рабочей зоны, растительных материалах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии № 379/10-02/2381/17. Минск, 2019.

REFERENCES:

1. Iljukova I.I., Hrynchak V.A., Anisovich M.V., Popel A.A., Vasileva M.M. Features of determining the equivalence of generic pesticide products. Health and the Environment. 228-225 :26 ;2016 (in Russian).
2. Bjendzel Briston L., Sachivi Norbert M. 2 Herbicidal compositions containing -4-amino-3-chloro-4) -6-chloro-2-fluoro-3-methoxyphenyl) -5-fluoropyridin-2-carboxylic acid or its derivatives and flurtamone, diflufenican or picolinafen. Patent RF, N 2018 ;2644180 (in Russian).
3. Haker Jervin, Biringer Hermann, Huff Hans Filipp. Synergistic herbicidal combination and weed control method. Patent RF, N 2009 ;2344601 (in Russian).
4. Korshun O.M., Lipavskaja A.A., Rudaja T.V. Analytical support of hygienic control over the use of picolinafen based herbicides. Naukovij ogljad. 15 ;2015 53-46 :5) (in Russian).
5. Unified sanitary-epidemiological and hygienic requirements for goods subject to sanitary-epidemiological supervision (control). Chapter II, sect. 15. Requirements for pesticides and agrochemicals: 1070-983 (in Russian).
6. Vlasenko E.K., Sychik S.I. Methodological aspects of toxicological and hygienic assessment of plant growth regulators. Tr. Belorus. gos. un-ta. Fiziol., biokhim. i molekular. osnovy funkcionirovanija biosistem. 11 ;2016 63-42 :1) (in Russian).
7. Kozhuro Ju.I., Anisovich M.V., Afonin V.Ju. The effect of triazine herbicides simazin and seмерon on the cells of the leukocyte series of poikilothermic animals. Vesti BGU. Serija :2 ;2014 .2 44-40 (in Russian).
8. Vlasenko E.K., Hrynchak V.A., Popel A.A., Kisel M.A. Scientific substantiation of the maximum allowable levels of -5aminolevulinic acid hexyl ester in food raw materials and the development of methods for its determination in human environment. Health and the Environment. 221-217 :26 ;2016 (in Russian).

9. Vlasenko E.K., Stelmah V.A., Iljukova I.I., Kremko L.M., Hrynchak V.A. Scientific substantiation of a number of hygienic regulations for the content of -5aminolevulinic acid hexyl ester in the human environment. Health and the Environment. 87-82 :2) 25 ;2015 (in Russian).
10. Guideline № 2004-35-12-1.1.11. Requirements for the setting up of experimental studies for initial toxicological assessment and hygienic regulation of substances. Minsk, 2004 (in Russian).
11. Methodical recommendations № 0010-118. Experimental substantiation and calculation of footwear of harmful substances in the air of the working area. Minsk, 2010 (in Russian).
12. Guidelines for decision on tentatively safe exposure levels (SLE) and hazard class of pollutants in the atmospheric air of populated areas № 97-2-7-11. Minsk, 1998 (in Russian).
13. Guidelines for the use of calculation and express experimental methods

- in hygienic regulation of chemical compounds in water of reservoirs № 78-1943. М., 1979 (in Russian).
14. Methodical recommendations № 0010-127. Accelerated hygienic regulation of exogenous chemicals in the soil. Minsk, 2000 (in Russian).
 15. Guidelines for hygienic assessment of new pesticides № 87-4263. Kiev, 1988 (in Russian).
 16. Pest Management Regulatory Agency de réglementation de la antiparasitaire Regulatory Note REG2003) 02-2003). Available at: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&ved=2ahUKewiY5NDJpevkAhUjy6YKHRVfCk4QFjAEegQIBRAC&url=https%3A%2F%2Fwww.fluoridealert.org%2Fwp-content%2Fpesticides%2Fpicolinafen.canada.feb.2003.pdf&usq=A0Vaw1tZqLIET_K3ES5yU8cbp4 (accessed 24 September 2019).
 17. Evaluation of the new active PICOLINAFEN in the products SNIPER HERBICIDE & PARAGON HERBICIDE

(2000). Available at: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=6&ved=2ahUKEwjdxfbW6O3kAhUKCZoKHcjQDWEQFjAFegQIARAC&url=https%3A%2F%2Fapvma.gov.au%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fpublication%2F-13896prs-picolinafen.pdf&usg=AOvVaw1k2bKl1m4YqagoF-jtq9jh> (accessed 23 September 2019).

gov.au%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fpublication%2F-13896prs-picolinafen.pdf&usg=AOvVaw1k2bKl1m4YqagoF-jtq9jh (accessed 23 September 2019).
18. State Standard 76-12.1.007.

Harmful substances. Classification and general safety requirements. Minsk: Standartinform Publ., 2008 (in Russian).
19. The methodology for determining picolinafen, the active substance of the

drug «MARAFON PLUS, KS» in water, soil, air of the working area, plant materials by high performance liquid chromatography No. 17/2381/02-10/379. Minsk, 2019 (in Russian).

V.A. Hrynychak, I.I. Ilyukova, S.I. Sychik

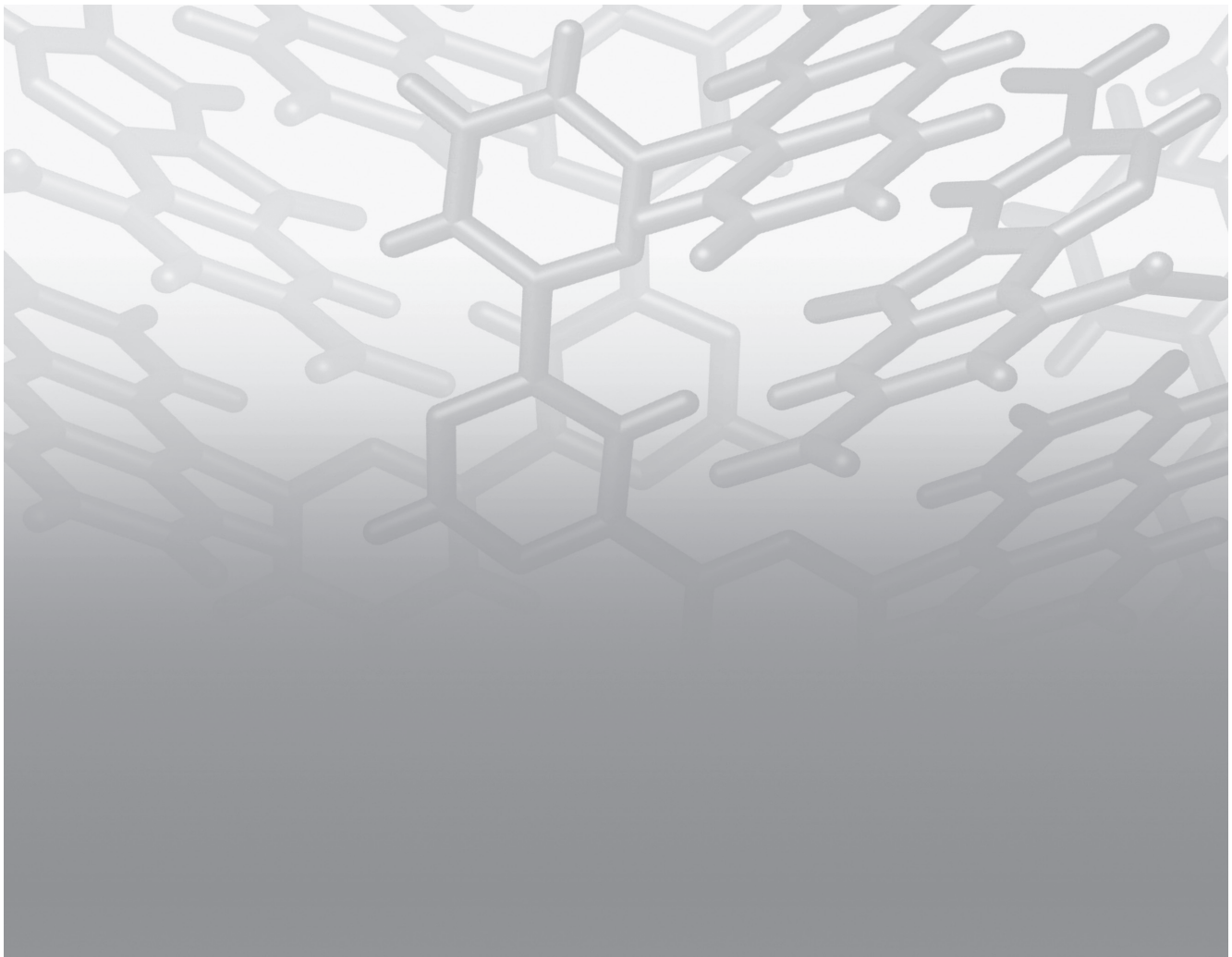
SCIENTIFIC BASIS OF HYGIENIC REGULATIONS OF PICOLINAPHENE CONTENT IN HUMAN ENVIRONMENT

Scientific Practical Centre of Hygiene, the Ministry of Health of the Republic of Belarus, 220012, Minsk, Republic of Belarus

Based on the available literature data, a comprehensive toxicological and hygienic assessment of picolinaphene, a new little-studied active ingredient of plant protection products used for selective destruction of plants, has been carried out. According to the accepted classification, picolinaphene can be assigned to hazard class 3 (moderately hazardous compound) with the general toxic limiting sign. As a result of the assessment, the hygienic regulations of the active substance in the human environment are scientifically substantiated: the tentative safe level of exposure in the air of the working area is 0,6 mg/m³, the tentative safe level of exposure in the air (average daily) is 0,004 mg/m³, the tentative permissible level in the water of water bodies is 0,07 mg/dm³, the tentative permissible concentration in the soil is 0,4 mg/kg, the temporary allowable daily dose is 0,015 mg/kg, and the temporary maximum allowable level of residual amounts of picolinaphene in grain crops is 0,2 mg/kg.

Keywords: *picolinaphene, plant protection products, hygienic regulations, food products.*

Материал поступил в редакцию 01.10.2019 г.



УДК 546.4 : 546.81 : 543.4 : 615.07

ПРЯМОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РТУТИ И СВИНЦА В КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ВЛИЯНИЕ ИХ УРОВНЯ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ПОТЕРЬ БЕРЕМЕННОСТИ РАНИХ СРОКОВ

Е.А. Зубакина¹,
Н.Б. Иваненко¹,
Н.В. Столярова¹,
А.А. Ганеев¹, В.А. Кашуро¹,
Д.В. Байбуз², М.М. Безручко¹

¹ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019,
г. Санкт-Петербург, Российская
Федерация

²Клиника ВМТ им. Н.И. Пирогова
СПбГУ, 190103, г. Санкт-Петербург,
Российская Федерация

Разработан методический подход для прямого определения ртути в крови на анализаторе РА-915 с пиролитическим разложением пробы. Предел обнаружения предложенной методики равен 0,5 мкг/л, при этом относительное стандартное отклонение не превысило 10%. При определении свинца использовалась ранее созданная нами методика прямого определения свинца в крови [1].

На втором этапе исследования был осуществлен биомониторинг беременных женщин с целью выявления связи потерь беременности на ранних сроках с содержанием ртути и свинца в их крови. В исследовании приняло участие 25 женщин с диагнозом неразвивающаяся беременность, 47 женщин из контрольной группы.

В результате проведенных исследований было установлено, что у женщин, потерявших беременность, содержание ртути и свинца было выше практически на 25%.

Ключевые слова: тяжелые металлы, ртуть, свинец, перинатальные потери, атомная абсорбция, спектрометрия, пиролиз, атомизация, прямое определение, предел обнаружения, биомониторинг.

Введение. Актуальной социальной и медицинской проблемой является невынашивание беременности. Несмотря на многочисленные и эффективные методы диагностики и лечения эта проблема не имеет тенденции к снижению. По данным Всемирной организации здравоохранения около 20% от всех желанных беременностей составляют самопроизвольные выкидыши (15%) и преждевременные роды (5%) [2]. Существенная доля перинатальных потерь связана с социально-биологическими факторами и влиянием окружающей среды – курение, употребление алкоголя, наркотиков, вредные производственные и экологические факторы [3]. Среди нескольких

сотен химических соединений, способных оказывать сильное воздействие на организм плода, выявлены вещества, обладающие явно выраженной эмбриотоксичностью. К ним относятся свинец, ртуть, фосфор, бензол, оксиды углерода [4].

На сегодняшний день рядом международных организаций здравоохранения свинец занесен в перечень приоритетных загрязняющих веществ [5-7]. Нормальные показатели свинца в крови здоровых людей обычно не превышают 50 мкг/л [8, 9]. Однако среди различных групп населения эти показатели могут колебаться в зависимости от степени загрязнения свинцом окружающей среды [8].

Зубакина Екатерина Александровна (Zubakina Ekaterina Alexandrovna), кандидат химических наук, младший научный сотрудник лаборатории токсикологической химии неорганических соединений ФГБУН ИТ ФМБА России, mihailova_katya@inbox.ru

Иваненко Наталья Борисовна (Ivanenko Natalya Borisovna), кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории токсикологической химии неорганических соединений ФГБУН ИТ ФМБА России, nbivanenko@mail.ru

Столярова Надежда Валерьевна (Stolyarova Nadezhda Valer'evna), кандидат химических наук, младший научный сотрудник лаборатории токсикологической химии неорганических соединений ФГБУН ИТ ФМБА России, snv@toxicology.ru

Ганеев Александр Ахатович (Ganeev Alexandr Akhatovich), доктор физико-математических наук, профессор, заведующий химико-аналитическим отделом ФГБУН ИТ ФМБА России, ganeevaa@lutex.ru

Кашуро Вадим Анатольевич (Kashuro Vadim Anatol'evich), доктор медицинских наук, заведующий лабораторией биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУН ИТ ФМБА России, kashuro.v.a@toxicology.ru

Байбуз Дмитрий Васильевич (Baibuz Dmitry Vasil'evich), заместитель директора по медицинской части (гинекология), врач акушер-гинеколог клиники ВМТ им. Н.И.Пирогова СПбГУ, baybooz@mail.ru

Безручко Марина Митрофановна (Bezruchko Marina Mitrofanovna), кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории токсикологической химии неорганических соединений ФГБУН ИТ ФМБА России, bezruchko@mail.ru

Свинец, накопленный в костных тканях еще в детском возрасте, выделяется обратно в кровь во время беременности, угрожая здоровью матери и ребенка. В исследовании, проведенном в Австралии [10], обнаружено, что относительный риск преждевременных родов возрастает в 2,8 раз при увеличении концентрации свинца в материнской крови на каждые 100 мкг/л. В Нигерии у беременных женщин с уровнем свинца в крови >250 мкг/л на 41,6% увеличилось число выкидышей [4]. Также отмечается, что при концентрации свинца в крови беременных 50–90 мкг/л вероятность выкидыша повышается в 2,3 раза; при повышении содержания свинца до 100–140 мкг/л вероятность выкидыша увеличивается в 5,4 раза, а больше 150 мкг/л – в 12,2 раза [4].

Воздействие ртути также вызывает повышенный риск репродуктивных потерь [11]. По степени воздействия на живые организмы ртуть относится к классу чрезвычайно токсичных элементов [11–14]. Фоновое, характерное для здоровых людей, содержание ртути в крови составляет 0,2–1 мкг/л, при этом, снижение иммунного статуса организма может проявляться уже при концентрациях выше 1 мкг/л, а токсическое влияние возникает при содержании ртути порядка 10 мкг/л [15, 16].

Взаимосвязь между воздействием ртути и выкидышами была исследована в Нигерии и на Ямайке [4]. У женщин, которые подверглись воздействию ртути, ученые выявили увеличение числа выкидышей на 9,5% по сравнению с неэкспонированной группой [17]. Была выявлена связь риска самопроизвольного выкидыша с повышенными содержаниями ртути в организме отца. Отмечается, что при концентрации ртути в моче у отцов, превышающей 50 мкг/л, риск самопроизвольных аборт у их жен увеличивался вдвое [10].

Таким образом, проведение своевременного мониторинга химического статуса беременных женщин - задача необходимая и актуальная, поскольку повышение концентрации свинца и ртути в крови женщин может являться одной из причин потери плода при беременности [18].

Одной из основных проблем при проведении биомониторинга микроэлементов является выбор метода количественного химического анализа, который обеспечил бы высокую чувствительность и достоверность результатов [19–21]. Для решения таких задач с метрологических позиций целесообразно применять атомно-абсорбционную спектрометрию [15, 22–24] и масс-спектрометрию с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) [25–29].

Метод ИСП-МС обеспечивает низкие пределы обнаружения по всем металлам, обладает хорошей воспроизводимостью. Однако он требу-

ет предварительной минерализации проб крови с использованием кислот, которая увеличивает время анализа и может приводить к загрязнению исследуемых образцов [19, 28]. Тем не менее, метод ИСП-МС оптимален для элементного анализа биологических жидкостей, поскольку, являясь многоэлементным, позволяет проследивать взаимное влияние микроэлементов и учитывать синергизм или антагонизм их действия [21].

Однако, для одноэлементного анализа более эффективен прямой атомно-абсорбционный высокоселективный метод основанный на использовании Зеemanовской модуляционной поляризации спектрометрии (ЗМПС). Приборы принципов действия которых основаны на использовании ЗМПС, позволяют проводить анализ биологических жидкостей напрямую, без предварительного разложения проб, что уменьшает время анализа и позволяет избежать возможных систематических погрешностей, связанных как с потерей ртути и свинца, так и загрязнением пробы [16, 23, 30, 31].

В настоящей работе разработана методика прямого атомно-абсорбционного определения ртути в крови с использованием Зеemanовского атомно-абсорбционного спектрометра РА-915. При обследовании групп беременных женщин, проживающих в районе с высоким антропогенным загрязнением свинцом и ртутью, использовалась как разработанная методика определения ртути в крови, так и ранее созданная методика прямого определения свинца в крови [1].

Материалы и методы исследования.

Средства измерений

Определение свинца в пробах крови проводилось на атомно-абсорбционном спектрометре МГА-915 с Зеemanовской модуляционной поляризационной коррекцией фона производства ООО «Люмэкс» Санкт-Петербург, Россия.

Концентрация ртути в крови определялась на аналитическом комплексе, состоящим из атомно-абсорбционного спектрометра РА-915+, приставки ПИРО-915+ и персонального компьютера с установленным ПО «РАПИД». Весь комплекс произведен ООО «Люмэкс» Санкт-Петербург, Россия.

Стандартные образцы и реактивы

Для приготовления градуировочных растворов ионов свинца использовали стандартный раствор ионов металлов 10 мг/л (High-Purity Standards™, ICP-MS Calibration Standard). Градуировочные растворы готовили последовательным разбавлением стандартного раствора раствором азотной кислоты марки Suprapur® (65%, Merck, Германия) с объемной долей 5%.

Для приготовления градуировочных растворов ионов ртути использовали стандартный образец состава водного раствора ионов ртути 1 г/л

(ГСО 8004-93, ООО «ЦСОВВ»), Растворы готовили последовательным разбавлением ГСО подкисленным раствором калия двуххромовокислого концентрацией 0,25 мг/л (чда, ТУ 6-09-02-399-86 «РЕАХИМ»).

Для проверки правильности применяли стандартные образцы состава цельной крови Seronorm™ Trace Elements Whole Blood L-3 (LOT 1509408, Sero, Норвегия).

Анализируемые образцы

Образцы крови были получены от пациентов консультативно-диагностической поликлиники ФГБУН ИТ ФМБА России на основе информационного согласия и в соответствии со стандартами Минздрава РФ.

Также на основе добровольного информационного согласия были исследованы образцы крови беременных женщин, проживающих в районе с высоким антропогенным загрязнением свинцом и ртутью.

На всех этапах работы (отбор проб, их транспортировка, хранение, подготовка проб и анализ) избегали возможного загрязнения проб. Пробы крови отбирались в утреннее время, натощак, в положении сидя из локтевой вены. Для отбора проб применялись вакуумные системы для взятия крови (Vacutest®, Vacutest КИМА, Италия). В качестве антикоагулянта использовали гепаринат лития. Отобранный биоматериал замораживали при -20°C и доставляли в лабораторию Института токсикологии.

Результаты и обсуждение.

Определение свинца в крови

В настоящей работе для определения свинца в крови беременных женщин были использованы разработанные нами методические указания по методам контроля [1].

В атомизатор вводили 5 мкл пробы, предварительно разбавленной в 20 раз, и 20 мкл модифика-

тора матрицы – нитрата палладия концентрации 1 г/л. Температурно-временная программа нагрева атомизатора с платформой Львова представлена в таблице 1.

Подтверждение правильности определения свинца в крови провели с использованием стандартного образца состава крови Seronorm™ Trace Element Whole Blood L-3. Содержание свинца в стандартном образце определяли с помощью заранее построенной градуировочной зависимости. Результаты анализа стандартного образца состава крови представлены в таблице 2.

Полученные значения концентрации свинца соответствует аттестованному значению в СО состава крови, что является подтверждением правильности проведенных измерений. Относительное стандартное отклонение не превысило 10%.

Выбор условий прямого определения ртути в крови

Зеэмановский спектрометр РА-915+ с пиропроставкой «ПИРО-915+» позволяет проводить определение ртути при достаточно высоких температурах (до 830 С) без каких-либо потерь летучих форм этого элемента. Это достигается за счет прямого ввода пробы непосредственно в атомизатор, а также за счет особой конструкции пиролизической камеры, из которой облако атомарной ртути потоком газа носителя направляется непосредственно в аналитическую кювету [30].

Приставка ПИРО-915 позволяет производить пиролиз образцов в нескольких температурных режимах. Каждый режим характеризуется своими значениями температуры испарителя и скорости прокачки воздуха (табл. 3).

Для выбора оптимального режима пиролиза образцов крови на аналитическом комплек-

Таблица 1

Температурно-временные условия определения свинца методом ААС-ЭТА

Сушка		Пиролиз 1		Атомизация		Очистка	
t, с	T, °C	t, с	T, °C	t, с	T, °C	t, с	T, °C
50	90	16	600	2	2200	2	2400

Таблица 2

Анализ стандартного образца состава крови (n = 5, P = 0,95)

Стандартный образец	Измеренная концентрация, мкг/л	Аттестованное значение, мкг/л
Seronorm™ Trace Element Whole Blood L-3	354 ± 24	362 ± 73

Таблица 3

Режимы работы пироприставки ПИРО-915

Режим работы	Скорость прокачки воздуха, л/мин	Температура испарителя, °С
Mode 1	0,8-1,2	680-740
Mode 2	0,8-1,2	520-580
Mode 3	0,8-1,2	370-430
Mode 4	0,8-1,2	170-230
Mode 5	2,5-3,5	560-620
Mode 6	0,8-1,2	170-230

се производили измерения содержания ртути в СО крови Seronorm Trace Elements Whole Blood L-3 с использованием всех температурных режимов. Оказалось, что температуры атомизации для режимов Mode 3-6 недостаточно высоки для полного пиролиза образцов крови. В то же время при использовании режима Mode 1 наблюдалось значительное неселективное поглощение излучения, вызванное, вероятно, образованием больших количеств продуктов сгорания органической матрицы пробы. Оптимальным режимом для пиролиза образцов крови оказался режим Mode 2.

Градуировочную зависимость строили с использованием водных стандартных растворов ионов Hg^{2+} . В кварцевую ложечку дозатором вводили 100 мкл раствора с концентрацией ртути 1; 5; 10; 20; 50; 100 и 150 мкг/л соответственно и измеряли аналитический сигнал ртути в выбранном режиме. Оказалось, что в области от 0 до 150 мкг/л наблюдалась линейная зависимость аналитического сигнала от содержания ртути. Таким образом, данная область может быть использована для аналитических определений.

После построения градуировочного графика по 3 σ -критерию был оценен предел обнаружения ($n = 8$), он оказался равным 0,5 мкг/л.

Правильность данной методики оценили, проанализировав стандартный образец состава крови SeronormTM Trace Element Whole Blood L-3. Результаты анализа стандартного образца состава крови представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 3, полученное и аттестованное значения содержания ртути близки, что подтверждает правильность предложенной методики. Воспроизводимость результатов анализа составила 7–10%.

Определение содержания свинца и ртути в крови у беременных женщин

Описанные методики были использованы для анализа образцов проб крови 25 женщин с диагнозом неразвивающаяся беременность, 47 женщин из контрольной группы, благоприятным исходом беременности, средний возраст обследуемых пациенток составил 31,5 года. Все беременные не имели в свое анамнезе каких-либо хронических заболеваний или вредных привычек, которые могли бы привести к перинатальным потерям. Полученные результаты представлены на рисунке.

Анализ полученных данных показал, что у женщин, потерявших беременность, по сравнению с контрольной группой, концентрация ртути и свинца в крови увеличена приблизительно на 25%. Можно предположить, что повышенное содержание этих металлов в крови беременных женщин, могло явиться одной из причин потери беременности.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения клинко-диагностическими лабораториями женских консультаций биомониторинга на содержание ртути и свинца для выявления и снижения рисков прерывания беременности.

Таблица 4

Результаты определения ртути в стандартном образце состава крови ($n = 5$, $P = 0,95$)

Стандартный образец	Измеренная концентрация, мкг/л	Аттестованное значение, мкг/л
Seronorm TM Trace Element Whole Blood L-3	22,4 ± 2,0	23,7 ± 2,4

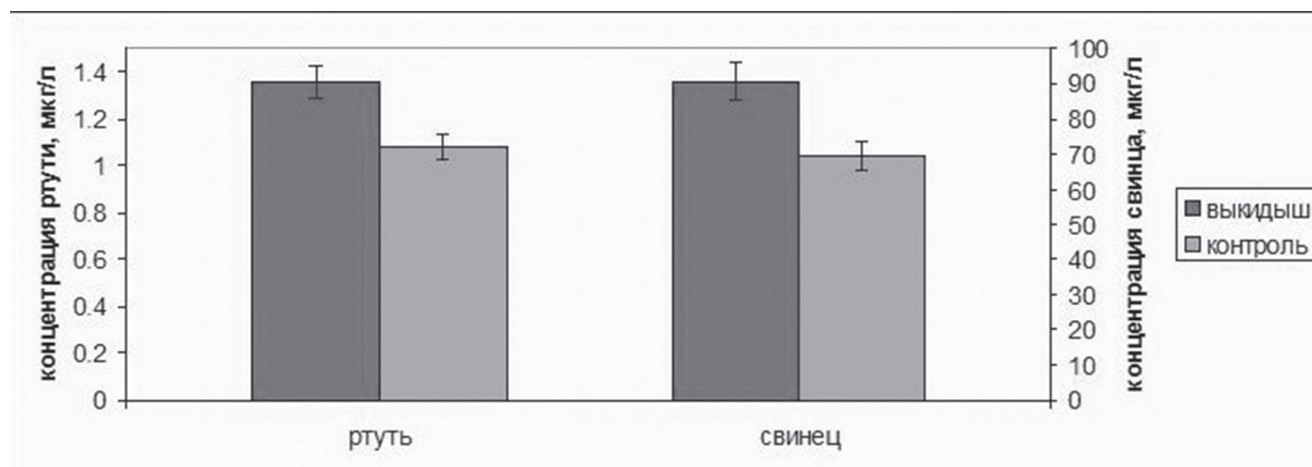


Рис. Содержание свинца и ртути в крови беременных женщин. Левая вертикальная ось – концентрация ртути в мкг/л, правая – концентрация свинца в мкг/л.

Заключение. В предложенной работе разработан способ прямого определения ртути в крови на анализаторе РА-915 без использования предварительного концентрирования или разложения пробы с пределом обнаружения 0,2 мкг/л, соответствующим фоновому содержанию ртути в крови.

Отсутствие подготовки проб, низкая трудоемкость и высокая производительность предложенного варианта, (вместе с отбором проб анализ занимает не больше 10 мин), позволило использовать разработанный подход для исследования воздействия ртути и свинца на организм беременных женщин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. МУК 4.1.032-15. Методика измерения массовой концентрации свинца в пробах крови человека атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией. М., 2015.
2. Каусова Г.К., Файзрахманова Т.М. К проблеме невынашивания беременности у женщин (обзор). Вестник КазНМУ. 2017; 4: 1-3.
3. Кхан Р.Б. Проблемы репродуктивного здоровья населения в условиях антропогенного загрязнения (обзор литературы). Оренбургский медицинский вестник. 2018; VI (3): 4-11.
4. Amadi C.N., Igweze Z.N., Orisakwe O.E. Heavy metals in miscarriages and stillbirths in developing nations. Middle East Fertility Society Journal. 2017; 22: 91-100.
5. Колосова И.И. Влияние ацетата свинца, солей тяжелых металлов на репродуктивную функцию. Вестник проблем биологии и медицины. 2013; 2 (3): 13-18.
6. ВОЗ. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Свинец. Совместное издание Программы ООН по окружающей среде и Всемирной организации здравоохранения. Женева, 1980.
7. CERCLA. Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act. New York. 1980.
8. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. М.: Мир; 2004.
9. Шестова Г.В., Ливанов Г.А., Остапенко Ю.Н., Иванова Т.М., Сизова К.В. Опасность хронических отравлений свинцом для здоровья населения. Медицина экстремальных состояний. 2012; 4 (42): 65-97.
10. Gupta R.C. Reproductive and Developmental Toxicology. 2 ed. New York: Academic Press; 2011.
11. Xue F., Holzman C., Rahbar M. H., Trosko K., Fischer L. Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. Environ. Health Perspect. 2007; 115: 42-47.
12. Bjørklund G., Dadar M., Mutter J., Aaseth J. The toxicology of mercury: Current research and emerging trends. Environmental Research. 2017; 159: 545-554.
13. Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M., Jacob D.J., Pirrone N. Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. Environmental Science & Technology. 2013; 47: 4967-4983.
14. Gutierrez-Mosquera H., Sujitha S.B., Jonathan M.P., Sarkar S.K., Medina-Mosquera F., Ayala-Mosquera H. et al. Mercury levels in human population from a mining district in Western Colombia. Journal of Environmental Sciences. 2018; 68: 83-90.
15. Калетина Н.И. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов. М.: «ГЕОТАР-Медиа»; 2008.
16. Ганеев А.А., Шолупов С.Е., Пупышев А.А., Большаков А.А., Погарев С.Е. Атомно-абсорбционный анализ: учебное пособие. СПб, Лань; 2011.
17. Otebhi G.E., Osadolor H.B. Select toxic metals status of pregnant women with history of pregnancy complications in Benin City, South-South Nigeria. J. Appl. Sci. Environ. 2016; 20: 5-10.
18. Ajayi O.O., Charles-Davies M.A., Arinola O.G. Progesterone, selected heavy metals and micronutrients in pregnant Nigerian women with a history of recurrent spontaneous abortion. Afr. Health Sci. 2012; 12: 153-159.
19. Ivanenko N.B., Ivanenko A.A., Solovyyev N.D., Zeimal' A.E., Navolotskii D.V., Drobyshev E.J. Biomonitoring of 20 trace elements in blood and urine of occupationally exposed workers by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. Talanta. 2013; 116: 764-769.
20. Becker J.S. Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications. Chichester: John Wiley & Sons; 2007.
21. Иваненко Н. Б., Ганеев А. А., Соловьев Н. Д., Москвин Л. Н. Определение микроэлементов в биологических жидкостях (Обзор). Ж. аналит. химии. 2011; 66 (9): 900-915.
22. Ivanenko N.B., Solovyyev N.D., Ivanenko A.A., Ganeev A.A. Application of Zeeman Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry with High-Frequency Modulation Polarization for the Direct Determination of Aluminum, Beryllium, Cadmium, Chromium, Mercury, Manganese, Nickel, Lead, and Thallium in Human Blood. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2012; 63: 299-308.
23. Соловьев Н.Д., Иваненко Н.Б., Иваненко А.А., Кашуро В.А. Определение микроэлементов в биологических жидкостях методом ААС-ЭТА с Зеемановской коррекцией фона. Вестник ОГУ. 2011; 134 (15): 127-130.
24. Kummrow F., Silva F.F., Kuno R., Souza A.L., Oliveira P.V. Biomonitoring method for the simultaneous determination of cadmium and lead in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry for assessment of environmental exposure. Talanta. 2008; 75: 246-252.
25. Hansen S., Nieboer E., Sandanger T.M., Wiilgaard T., Thomassen Y., Veyhe A.S et al. Changes in maternal blood concentrations of selected essential and toxic elements during and after pregnancy. J. Environ. Monit. 2011; 13: 2143-2152.
26. Larsen T.J., Jørgensen M.E., Larsen C.V.L., Dahl-Petersen I.K., Rønn P.F., Bjerregaard P. et al. Whole blood mercury and the risk of cardiovascular disease among the Greenlandic population. Environmental Research. 2018; 164: 310-315.
27. Burm E., Song I., Ha M., Kim Y.-M., Lee K. J., Kim H.-C. et al. Representative levels of blood lead, mercury, and urinary cadmium in youth: Korean Environmental Health Survey in Children and Adolescents (KorEHS-C), 2012-2014. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2016; 219: 412-418.
28. Уланова Т.С., Стенно Е.В., Вейхман Г.А., Недошитова А.В. Методические и практические аспекты определения общей ртути в образцах цельной крови, мочи и волос методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Анализ риска здоровью. 2018; 2: 119-128.
29. Kim J.H., Lee S.J., Kim S.Y., Choi G., Lee J.J., Kim H.J. et al. Association of food consumption during pregnancy with mercury and lead levels in cord blood. Science of the Total Environment. 2016; 563-564: 118-124.
30. Машьянов Н.Р., Погарев С.Е., Рыжов В.В., Шолупов С.Е. Возможности атомно-абсорбционного спектрометра РА-915+ с зеемановской коррекцией для определения ртути в различных средах. Аналитика и контроль. 2001; 4: 1-5.
31. Ganeev A.A., Sholupov S.E. Zeeman atomic-absorption spectrometry using high frequency modulated light polarization. Spectrochim. Acta. 1995; 50 (B):1227-1236.

REFERENCES:

- MUK 15-4.1.032. Methods of measuring the mass concentration of lead in human blood samples by an atomic absorption method with electrothermal atomization. Moscow, 2015. (in Russian).
- Kausova G.K., Fayzrakhmanova T.M. Problems with the termination of pregnancy in women. Bulletin of KazNMU, 2017. - Vol. 4. - Pp. 3-1 (in Russian).
- Khan R.B. Problems of reproductive health of the population in conduction of anthropogenic pollution (review of literature). Orenburg Medical Bulletin, 2018. Vol. VI. - Iss. 3. - Pp. 11-4 (in Russian).
- Amadi C.N., Igweze Z.N., Orisakwe O.E. Heavy metals in miscarriages and stillbirths in developing nations. Middle East Fertility Society Journal. :22 ;2017 100-91.
- Kolosova I.I. Influence of lead acetate, salts of heavy metals on reproductive function. Bulletin of Problems of Biology and Medicine, 2013. Vol. 2. - Iss. 3. - Pp. 18-13 (in Russian).
- WHO. Hygienic criteria for the state of the environment. Lead. Joint publication of the United Nations Environment Program and the World Health Organization. Geneva, 1980. (in Russian).
- CERCLA. Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act. New York, 1980.
- Skal'nyy A.V. Chemical elements in human physiology and ecology. M.: Mir, 2004 (in Russian).
- Shestova G.V., Livanov G.A., Ostapenko Yu.N., Ivanova T.M., Sizova K.V. Danger of chronic poisoning by lead for health of people. Medicine of Extreme Situations. 97-65 :4 ;2012. (in Russian).
- Gupta R.C. Reproductive and Developmental Toxicology. 2 ed. New York: Academic Press. 2011.
- Xue F., Holzman C., Rahbar M.H., Troško K., Fischer L. Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery Environ. Health Perspect. 2007. vol. 115 pp. 47-42.
- Björklund G., Maryam Dadar M., Mutter Ja., Aaseth Ja. The toxicology of mercury: Current research and emerging trends. Environmental Research. :2017 554-545 :159.
- Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M., Jacob D.J., Pirrone N. Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. Environmental Science & Technology. 4983-4967 :47 ;2013.
- Gutiérrez-Mosquera H., Sujitha S.B., Jonathan M.P., Sarkar S.K., Medina-Mosquera F., Ayala-Mosquera H. et al. Mercury levels in human population from a mining district in Western Colombia. Journal of Environmental Sciences. :2018 90-83 :68.
- Kaletina N.I. Toxicological chemistry. Metabolism and analysis of toxicants. M.: GEOTAR-Media, 2008 (in Russian).
- Ganeev A.A., Sholupov S.E., Pupyshov A.A., Bo'shakov A.A., Pogarev S.E. Atomic absorption analysis (a textbook). St. Petersburg: LAN, 2011 (in Russian).
- Otebhi G.E., Osadolor H.B. Select toxic metals status of pregnant women with history of pregnancy complications in Benin City, South-South Nigeria. J. Appl. Sci. Environ. 10-5 :20 ;2016.
- Ajayi O.O., Charles-Davies M.A., Arinola O.G. Progesterone, selected heavy metals and micronutrients in pregnant Nigerian women with a history of recurrent spontaneous abortion. Afr. Health Sci. 159-153 :12;2012.
- Ivanenko N.B., Ivanenko A.A., Solovyev N.D., Zeimal' A.E., Navolotskii D.V., Drobyshev E.J. Biomonitoring of 20 trace elements in blood and urine of occupationally exposed workers by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. Talanta. :116 ;2013 769-764.
- Becker J.S. Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications. Chichester: John Wiley & Sons. 2007.
- Ivanenko N.B., Ganeev A.A., Solovyev N.D., Moskvina L.N. Determination of trace elements in biological fluids. Journal of Analytical Chemistry, 2011. - Vol. 66. - Iss. 9. - Pp. 799-784 (in Russian).
- Ivanenko N.B., Solovyev N.D., Ivanenko A.A., Ganeev A.A. Application of Zeeman Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry with High-Frequency Modulation Polarization for the Direct Determination of Aluminum, Beryllium, Cadmium, Chromium, Mercury, Manganese, Nickel, Lead, and Thallium in Human Blood. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 308-299 :63 ;2012.
- Solov'yev N.D., Ivanenko N.B., Ivanenko A.A., Kashuro V.A. Determination of trace elements in biological fluids by the AAS-ETA method with Zeeman lantern correction. OGU Bulletin, 2011. - Vol. 134. - Iss. 15. - Pp. 130-127 (in Russian).
- Kummrow F., Silva F.F., Kuno R., Souza A.L., Oliveira P.V. Biomonitoring method for the simultaneous determination of cadmium and lead in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry for assessment of environmental exposure. Talanta, 252-246 :75 ;2008.
- Hansen S., Nieboer E., Sandanger T.M., Wilsgaard T., Thomassen Y., Veyhe A. Set al. Changes in maternal blood concentrations of selected essential and toxic elements during and after pregnancy. J. Environ. Monit. :13 ;2011 2152-2143.
- Larsen T.J., Jørgensen M.E., Larsen C.V.L., Dahl-Petersen I.K., Rønn P.F., Bjerregaard P. et al. Whole blood mercury and the risk of cardiovascular disease among the Greenlandic population. Environmental Research. :164 ;2018 315-310.
- Burm E., Song I., Ha M., Kim Y.M., Lee K.J., Kim H.C et al. Representative levels of blood lead, mercury, and urinary cadmium in youth: Korean Environmental Health Survey in Children and Adolescents (KorEHS-C), 2014-2012. Int J Hyg Environ Health. :219 ;20164 418-412.
- Ulanova T.S., Steno E.V., Weikhan G.A., Nedoshitova A.V. Methodical and practical aspects of determining total mercury in samples of whole blood, urine and hair by inductively coupled plasma mass spectrometry. Health risk analysis, 2018. - Vol. 2. - Pp. 128-119 (in Russian).
- Kim J.H., Lee S.J., Kim S.Y., Choi G., Lee J.J., Kim H.J. et al. Association of food consumption during pregnancy with mercury and lead levels in cord blood. Science of the Total Environment. :2016 124-118 :564-563.
- Mashyanov N.R., Pogarev S.E., Ryzhov V.V., Sholupov S.E. Possibilities of atomic absorption spectrometer RA-915 with Zeeman correction for the determination of mercury in various environments. Analytica and control, 2001. - Vol. 4. - Pp. 5-1 (in Russian).
- Ganeev A.A., Sholupov S.E. Zeeman atomic-absorption spectrometry using high frequency modulated light polarization. Spectrochim. Acta. :1995 50 (B):1236-1227.

E.A. Zubakina¹, N.B. Ivanenko¹, N.V. Stolyarova¹, A.A. Ganeev¹, V.A. Kashuro¹,
D.V. Baibuz², M.M. Bezruchko¹

DIRECT DETERMINATION OF THE CONTENT OF MERCURY AND LEAD IN THE BLOOD OF PREGNANT WOMEN AND THE INFLUENCE OF THEIR LEVEL ON THE TERMINATION OF PREGNANCY IN EARLY TERMS

¹Institute of Toxicology, Federal Medical Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

²N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University, 190103, Saint Petersburg, Russian Federation

A methodological approach for the direct determination of mercury in the blood using analyzer RA-915 with pyrolytic decomposition of the sample has been developed. The detection limit of the proposed technique is 0,5 µg/L with the relative standard deviation not exceeding 10%. To determine the lead content, the previously created method of direct lead determination in the blood has been used.

In the second stage of the study, biomonitoring of pregnant women has been carried out in order to identify the relationship between the termination of pregnancy in early terms with the content of mercury and lead in women's blood. The study involved 25 women with a diagnosis of non-developing pregnancy, and 47 women from the control group.

As a result of the conducted studies, it has been found that the contents of mercury and lead in women with non-developing pregnancy were almost 25% higher.

Keywords: heavy metals, mercury, lead, perinatal losses, atomic absorption, spectrometry, pyrolysis, atomization, direct determination, detection limit, biomonitoring.

Материал поступил в редакцию 19.09.2019 г.

СЪЕЗДЫ И КОНФЕРЕНЦИИ

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА» Г. МИНСК

14-15 ноября 2019 г. в г. Минск (Республика Беларусь) на базе Белорусского государственного медицинского университета состоялась Международная научно-практическая конференция «Здоровье и окружающая среда», организованная Республиканским унитарным предприятием «Научно-практический центр гигиены» Минздрава Республики Беларусь. В работе конференции приняли участие ученые и специалисты из Республики Беларусь, Республики Казахстан, Российской Федерации, Латвии, Словении, Чешской Республики, а также представитель ЕАЭС и Европейского центра ВОЗ по окружающей среде и охране здоровья.

В первый день работы конференции были проведены открытые лекции: «Биомониторинг в Словении как инструмент для оценки экспозиции и риска» (Милена Хорват, Руководитель департамента экологических наук, Джозеф Стефан Институт, Словения); «Связь окружающей среды и здоровья – политика и наука» (Катерина Себкова, Директор Национального центра токсичных веществ и региональный центр Стокгольмской конвенции по стойким органическим загрязнителям, Масарик Университет, Чешская Республика).

После открытых лекций работа была продолжена на 8 секционных заседаниях и 3 круглых столах. В рамках конференции был проведен конкурс молодых ученых.

Сопредседателями круглого стола «Реализация технического регламента ТР ЕАЭС 041/2017 «О безопасности химической продукции» как укрепление потенциала для осуществления Роттердамской конвенции» были технический эксперт по химической безопасности Европейского центра ВОЗ по окружающей среде и охране здоровья И.А.Застенская и директор ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, доктор медицинских наук, профессор Х.Х.Хамидулина. На круглом столе рассматривались вопросы безопасного регулирования химических веществ.

Второй день международной научно-практической конференции был посвящен пленарным докладам, на котором председательствовала и



выступила с докладом Заместитель министра здравоохранения РБ, Главный государственный санитарный врач Республики Беларусь Н.П. Жукова. На пленарном заседании были с интересом заслушаны доклады директора НПЦ гигиены РБ С.И. Сычика «Политика в области здорового питания – международный и национальный аспекты», технического эксперта по химической безопасности Европейского центра ВОЗ по окружающей среде и охране здоровья И.А. Застенской «Регулирование химических веществ в контексте устойчивого развития», директора ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора Х.Х.Хамидулиной «Подходы к определению приоритетных химических веществ для государственного регулирования для государственного регулирования», заместителя директора по научной работе НПЦ гигиены РБ Е.В. Дроздовой «Оценка медико-экологических рисков в системе устойчивого развития», заведующего кафедрой гигиены и медицинской экологии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования Е.О. Гузик «Гигиенические факторы риска формирования нарушений здоровья учащихся Беларуси».

На пленарном заседании были подведены итоги конкурса молодых ученых. По результатам работы конференции была принята резолюция, в которой отмечены основные направления деятельности по сохранению здоровья населения и минимизации воздействия опасных факторов среды обитания.

Х.Х. Хамидулина

ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ, ПОМЕЩЕННЫХ В ЖУРНАЛЕ «ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК» В 2019 ГОДУ

- Т.О. Абдулмуталимова**
ОЦЕНКА КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПОДЗЕМНЫХ ВОД С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ МЫШЬЯКА В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКОВ ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН 39 (6)
- О.М. Алексеева, А.В. Кременцова, А.В. Кривандин, О.В. Шаталова, Ю.А. Ким**
МОДЕЛЬНЫЕ БИОМЕМБРАНЫ, КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИОННЫХ ДИАПАЗОНОВ ВРЕДНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ И ОБЪЕКТАХ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ 33 (3)
- О.М. Алексеева, А.В. Кременцова, А.В. Кривандин, О.В. Шаталова, Ю.А. Ким**
МОДЕЛЬНЫЕ БИОМЕМБРАНЫ КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИОННОГО ДИАПАЗОНА ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, НЕ ВЫЗЫВАЮЩЕГО ДЕСТРУКЦИЮ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ 10 (6)
- В.Н. Бабаков, Н.Ю. Роговская, И.Д. Курдюков, П.П. Бельтюков, С.А. Дулов, А.С. Радилов**
ВЛИЯНИЕ АГОНИСТОВ АРИЛГИДРОКАРБОНОВОГО РЕЦЕПТОРА И ЛИПОПОЛИСАХАРИДА НА МАРКЕРЫ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БЕНЗ(А)ПИРЕНА 19 (3)
- А.В. Бевзюк, С.А. Недовесова, В.В. Турбинский, А.С. Огудов, С.Б. Бортникова, Н.Г. Никифорова**
ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ И ТОКСИКОКИНЕТИКА МЫШЬЯКА И СУРЬМЫ ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ 43 (2)
- Д.А. Белинская, А.А. Баталова, Н.В. Гончаров**
ВЛИЯНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА СВЯЗЫВАЮЩУЮ И ЭСТЕРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ АЛЬБУМИНА ПО ОТНОШЕНИЮ К ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМ СОЕДИНЕНИЯМ ПО ДАННЫМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ 26 (3)
- Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов**
ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПЕПТИДОВ НА НАРУШЕНИЯ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА У КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ МОРФИНОМ 33 (5)
- М.В. Бидевкина, М.И. Голубева, Г.П. Панкратова, А.В. Лиманцев, И.Н. Разумная, А.Л. Караев, Т.Н. Потапова**
МАТЕРИАЛЫ ПО ОБОСНОВАНИЮ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ Н-ПЕНТИЛОВОГО ЭФИРА ХЛОМУРАВИНОЙ КИСЛОТЫ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ И В АТМОСФЕРЕ 43 (4)
- Т.В. Бушуева, И.А. Минигалиева, В.Г. Панов, А.Н. Кузнецова, А.С. Наумова, М.П. Сутункова, В.Я. Шур, Е.В. Шишкина, В.Б. Гурвич, Б.А. Кацнельсон**
НОВЫЕ ДАННЫЕ К ВОПРОСУ ОБ ИНФОРМАТИВНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ НА КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ДЛЯ ОЦЕНКИ СРАВНИТЕЛЬНОЙ И КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛООКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ 16 (4)
- А.Ф. Быкова, С.Е. Галан, В.Ю. Малягин, С.Н. Субботина**
ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРОИЗВОДНОГО АРИЛАЦЕТАМИДА GR 89,696, ОБЛАДАЮЩЕГО АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ 32 (4)
- В.Д. Гладких, Г.В. Вершинина**
ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ ОТРАВЛЕНИЙ ЦИАНИДАМИ 46 (3)
- А.И. Головкин, М.Б. Иванов, В.Л. Рейнюк, Ю.Ю. Ивницкий, В.А. Баринин, В.К. Бородавко**
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИЗАЙНЕРСКИХ НАРКОТИКОВ ИЗ ГРУППЫ СИНТЕТИЧЕСКИХ ОПИОИДОВ 3 (1)
- В.А. Грынчак, И.И. Ильюкова, С.И. Сычик**
НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГИГИЕНИЧЕСКИХ РЕГЛАМЕНТОВ СОДЕРЖАНИЯ НИКОЛИНАФИНА В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА 50 (6)
- Е.С. Другова, Н.Ф. Кушнерова, С.Е. Фоменко, В.Г. Спрыгин, Л.Н. Лесникова, В.Ю. Мерзляков, Т.В. Момот**
ВЛИЯНИЕ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ КРОВИ КРЫС И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО КОРРЕКЦИИ ПРИРОДНЫМИ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ПОЛИФЕНОЛАМИ 22 (2)
- Л.Б. Завалий, С.С. Петриков, А.Ю. Симонова, Т.И. Диная, М.М. Поцхверия, Ю.Н. Остапенко, М.В. Гайдук**
ПСИХО-ЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ ТАЛЛИЕМ 9 (4)
- Е.А. Зубакина, Н.Б. Иваненко, Н.В. Столярова, А.А. Ганеев, В.А. Кашуро, Д.В. Байбуз, М.М. Безручко**
ПРЯМОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РУТИ И СВИНЦА В КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ВЛИЯНИЕ ИХ УРОВНЯ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ПОТЕРЬ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ 56 (6)
- Ю.Ю. Ивницкий, Т.В. Шефер, А.А. Тяптин, В.Л. Рейнюк**
ИЗМЕНЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ МИЕЛОБЛАСТИОМНОГО РЕЖИМА ПРИМЕНЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА 13 (3)
- А.В. Кадомцева, И.В. Жданович, М.С. Пискунова, А.Н. Линева, А.Н. Новикова, П.А. Логинов**
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ГЕРМАНИЯ 16 (2)
- Б.А. Кацнельсон, М.П. Сутункова, Л.К. Конышева, С.Н. Соловьева, И.А. Минигалиева, В.Б. Гурвич, Л.И. Привалова**
МНОГОКАМЕРНАЯ МОДЕЛЬ КАК ИНСТРУМЕНТ АНАЛИЗА ТОКСИКОКИНЕТИЧЕСКОЙ РОЛИ РАСТВОРЕНИЯ ЭЛЕМЕНТО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ И ФАГОЦИТАРНОЙ РЕАКЦИИ НА ИХ ОТЛОЖЕНИЕ В ЛЁГКИХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ 12 (5)
- Т.А. Кострова**
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ И АПОПТОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОГО ТЯЖЕЛОГО ОТРАВЛЕНИЯ ТИОПЕНТАЛОМ НАТРИЯ 49 (5)
- Э.Р. Кудояров, Д.Д. Каримов, Т.Г. Кутлина, Д.О. Каримов, Г.Ф. Мухаммадиева, Н.Ю. Хуснутдинова, К.В. Данилко, А.Р. Гимадиева, А.Б. Бакиров**
ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА IN VITRO 38 (4)
- О.И. Куликова, Т.Н. Федорова, В.С. Орлова**
МОДЕЛИРОВАНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА С ПОМОЩЬЮ ЭКЗОГЕННЫХ НЕЙРОТОКСИНОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) 9 (2)
- Д.С. Лаптев, С.Г. Петунов, О.В. Нечайкина, Д.В. Бобков**
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИЗОЛИРОВАННОГО МИОКАРДА КРЫСЫ ПОСЛЕ КУРСОВОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДИОКТИЛТЕРЕФТАЛАТА 21 (5)
- К.А. Лунёва, К.Э. Терновская, О.Е. Клементьева, А.С. Лунёва**
ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ИНДИЙ-111-МЕЧЕННЫХ АУТОЛОГИЧНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ 18 (1)
- А.А. Маслеников, В.А. Антонов, Л.Ю. Бочарова, Л.П. Точилкина, О.Н. Новикова, Н.В. Ходыкина, М.А. Гришина, А.Я. Почепцов**
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ И ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ КОМПОНЕНТА ТВЕРДЫХ РАКЕТНЫХ ТОПЛИВ 12 (1)
- Г.Ф. Мухаммадиева, Д.О. Каримов, А.Б. Бакиров, Т.Г. Кутлина, Я.В. Валова, Э.Р. Кудояров, Н.Ю. Хуснутдинова**
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА HMOX1 В ПЕЧЕНИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ТЕТРАХЛОРЕТАНОМОВЫМ ГЕПАТИТОМ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ 45 (6)
- Н.И. Николаева, В.Н. Ракитский, А.С. Филин**
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОГО ХИМИЧЕСКОГО АЭРОЗОЛЯ И НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ 34 (1)
- Н.С. Осечкина, Г.В. Назаров, М.Б. Иванов, Е.Г. Батоцыренова, В.А. Кашуро, Н.В. Лапина, О.В. Варламова, И.С. Кравцов, А.В. Бабкин, А.С. Краева, А.С. Мелехова, К.О. Войцехович, Д.С. Лисицкий**
ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА GABRA2 НА СТЕПЕНЬ ОТРАВЛЕНИЯ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ 3 (3)
- Ю.Н. Остапенко, Б.Б. Яцинюк, С.А. Васильев, А.М. Лаптев, П.П. Гавриков**

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИТЕРИЕВ КАЧЕСТВА В ЦЕЛЯХ ОЦЕНКИ ОКАЗАНИЯ ПОМОЩИ ПО ПРОФИЛЮ «ТОКСИКОЛОГИЯ»	3 (2)
Т.Д. Панова, А.Ю. Дмитриев, С.Б. Борзаков, С.Г. Ленник, Г.М. Кабирова, А.Н. Быченко, Д.А. Желтов, М.А. Эдомская, П.В. Ижевский	
УСТАНОВЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ВОЛОСАХ ПЕРВОЙ РУССКОЙ ЦАРИЦЫ АНАСТАСИИ РОМАНОВНЫ	8 (3)
В.Н. Ракитский, Т.М. Епишина, Е.Г. Чхвиркия, Т.А. Синицкая, Е.А. Мухина	
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ТЕХНИЧЕСКОГО ПРОДУКТА ПРОИЗВОДНОГО ТРИАЗИНОНОВ	39 (1)
Э.Ф. Репина, Н.Ю. Хуснутдинова, Г.В. Тимашева, С.С. Байгильдин, Д.О. Каримов, Л.А. Мусина, В.А. Мышкин, А.Б. Бакиров, А.Р. Гимадиева	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИГИПОКСАНТОВ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	43 (1)
К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Т.А. Гуськова, Р.Г. Гусейнов	
СНИЖЕНИЕ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ ПРОВЕДЕНИЕМ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ДИАЛИЗА С ВКЛЮЧЕНИЕМ ГИДРОКАРБОНАТА НАТРИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КРЫС УРАНИЛ АЦЕТАТОМ ДИГИДРАТОМ	33 (6)
К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Т.А. Гуськова	
МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РАННЕМУ ВЫЯВЛЕНИЮ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ТОКСИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА НА ОСНОВЕ ДИНАМИКИ НЕКОТОРЫХ БИОМАРКЕРОВ	37 (2)
А.Г. Синенченко, А.Н. Лодягин, Б.В. Батоцыренов, И.А. Шикалова, А.М. Антонова	
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ И СТРУКТУРЫ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ (ПО ДАННЫМ МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА)	4 (4)
Е.А. Ситникова, Е.П. Рогожникава, С.Г. Марданлы, В.А. Киселева	
ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТОВ НИФУРОКСИДА В ФОРМЕ СУСПЕНЗИИ	29 (1)
Г.А. Софронов	
О ТВОРЧЕСКОМ НАСЛЕДИИ АКАДЕМИКА РАМН С.Н. ГОЛИКОВА	2 (3)
А.А. Спасов, Д.С. Яковлев, Д.В. Мальцев, М.В. Мирошников, К.Т. Султанова, О.Н. Жуковская, В.А. Анисимова, К.А. Нечаева	
НЕЙРОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ 5-НТ2А-АНТАГОНИСТА ПРОИЗВОДНОГО ИМИДАЗОБЕНЗИМИДАЗОЛА	23 (1)
И.М. Суханов	
АГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ СО СЛЕДОВЫМИ АМИИНАМИ, 1-ГО ПОДТИПА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ В ТЕРАПИИ ПСИХИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ С НАРУШЕНИЯМИ ИМПУЛЬСИВНОКОМПЬЮСЕРНОГО КОНТРОЛЯ	51 (3)
С.И. Сычик, В.М. Васильевич, Р.В. Богданов, Л.М. Бондаренко, А.В. Буйницкая	
ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ 3-ХЛОРПРОПИЛ И 6-ХЛОРГЕКСИЛАКРИЛАТОВ С ОБОСНОВАНИЕМ ОБУВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ	26 (5)
А.И. Уколов, М.Д. Шачнева, А.С. Радилов	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОМАРКЕРОВ ЭКСПОЗИЦИИ И ЭФФЕКТА 1,4-ДИХЛОРГЕКСАФТОРБУТЕНА-2	23 (4)
К.И. Усов, Т.А. Гуськова, Г.Г. Юшков	
АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ АДЕМЕТИОНИНА ПРИ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ	28 (6)
Х.Х. Хамидулина	
КОЛОНКА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА... 2 (1), 2 (2), 2 (4), 2 (5), 2 (6)	
Н.В. Ходыкина, Л.П. Точилкина, О.Н. Новикова, М.С. Срослов, А.Я. Почепцов, Ю.И. Великородная	
ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ	56 (3)
З.А. Шафигуллина, И.Г. Данилова, И.Ф. Гетте, В.Г. Сенцов, М.Т. Абидов	
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ АМИНОФАЛГИДРАЗИДА НА КЛЕТКИ ПЕЧЕНИ ПРИ ДИФFUЗНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ	39 (5)
Н.И. Шейна, В.А. Паршин, Т.А. Федотчева, Н.Л. Шимановский	
ВЛИЯНИЕ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА СТЕРОИДНОЙ СТРУКТУРЫ ГЕСТОБУТАНОИЛ ДЛЯ ГОРМОНАЛЬНОЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ГЕСТАГЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА РАЗВИТИЕ ПЛОДА И ПОТОМСТВА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ	28 (2)
М.Е. Шемаев, А.М. Малов, В.К. Сибиряков, Р.К. Глушков	
ОСОБЕННОСТИ ЭЛИМИНАЦИИ СВИНЦА У КРЫС ПРИ ЕГО ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ	45 (5)
И.Е. Шкаева, С.А. Солнцева, О.С. Никулина, А.И. Николаев, С.А. Дулов, А.В. Земляной	
ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ ФТАЛАТОВ	3 (6)
Б.Б. Яцинюк, Ю.Н. Остапенко, С.А. Васильев, Е.Е. Бебякина, П.П. Гавриков, А.М. Лаптев	
ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ МЕТИЛОВОГО СПИРТА, ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ В СТРУКТУРЕ ХИМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ НА ТЕРРИТОРИИ ХМАО-ЮГРА И РАЗВИТИЕ СИНДРОМОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ ДАННЫХ НОЗОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМАХ БОЛЕЗНИ	3 (5)
□ Дискуссия	
Н.А. Илюшина, Ю.А. Ревазова	
О РОЛИ ЭКСПЕРТНОГО СООБЩЕСТВА В ОЦЕНКЕ МУТАГЕННОСТИ И КАНЦЕРОГЕННОСТИ ПЕСТИЦИДОВ	48 (4)
□ Юбилейные даты	
К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ АКАДЕМИКА С.Н. ГОЛИКОВА	49 (1)
АНДРЕЙ СТАНИСЛАВОВИЧ РАДИЛОВ	
(К 60-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)	51 (1)
К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ЧЛЕН-КОРРЕСПОНДЕНТА РАН Б.А. КУРЛЯНДСКОГО	63 (3)
□ Некролог	
ПАМЯТИ КРАСОВСКОГО ГУРИЯ НИКОЛАЕВИЧА	59 (2)
□ Экологическая токсикология	
А.С. Богачева, Е.В. Полозова, В.В. Шилов, Е.В. Давыдова, М.А. Юдин, И.Н. Ключкин	
ИНДИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ ПРИ ПОМОЩИ ЦИАНОБАКТЕРИИ SYNECHOCYTIS SP	57 (4)
Е.К. Еськов, М.Д. Еськова, А.С. Рожников	
ДЕСТРУКЦИЯ СТенок МЕДОВОГО ЗОБИКА МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ СВИНЦОМ И КАДМИЕМ	54 (4)
Н.Ю. Тропин, М.Я. Борисов, Е.В. Угрюмова, А.С. Комарова, Е.С. Иванова	
СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЕЧНОГО ОКУНЯ (PERCA FLUVIATILIS (L.)) КРУПНЫХ ВОДОЕМОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ	53 (2)
Н.Ю. Тропин, М.Я. Борисов, Е.В. Угрюмова, А.С. Комарова, Е.С. Иванова	
СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЕЧНОГО ОКУНЯ (PERCA FLUVIATILIS (L.)) КРУПНЫХ ВОДОЕМОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ	53 (2)
Е.А. Чигринский	
ТИРЕОИДНЫЙ СТАТУС МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПИРЕТРОИДА ЦИПЕРМЕТРИНА	54 (5)
□ Химическая безопасность	
НОВОСТИ О ХОДЕ ПОДГОТОВКИ ДОКУМЕНТОВ ВТОРОГО УРОВНЯ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ ТР ЕАЭС «О БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ» (041/2017)	60 (5)
БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ	
ВЕЩЕСТВА, ОБЛАДАЮЩИЕ МУТАГЕННЫМ ДЕЙСТВИЕМ. КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТИ	54 (1)
□ Съезды, конференции, совещания	
Х.Х. Хамидулина	
59-е СОВМЕСТНОЕ ЗАСЕДАНИЕ КОМИТЕТА ОЭСР ПО ХИМИИ И РАБОЧЕЙ ГРУППЫ ОЭСР ПО ХИМИИ, ПЕСТИЦИДАМ И БИОТЕХНОЛОГИИ	63 (4)
□ Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам	53 (1), 60 (2)