

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



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

№ 1 (160), 2020

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

- Г.Н. Зарафьянц, В.Д. Исаков, Т.В. Горбачева**
ВОПРОСЫ ДИНАМИКИ, СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ И СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОТРАВЛЕНИЙ МЕТАДОНОМ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2009-2018 ГОДАХ..... 2
- М.Б. Иванов, М.В. Александров, В.С. Черный**
ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВАМИ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ 8
- Г.В. Тимашева, Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов, Н.Ю. Хуснутдинова, Г.Ф. Мухаммадиева, А.Б. Бакиров, Д.А. Смолянкин, С.С. Байгильдин**
ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ НА РАННИХ СРОКАХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ..... 13
- К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Т.А. Гуськова, Г.Н. Кульбицкий, М.Л. Александрова**
БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И МОРФОГЕНЕЗ ОСТРОГО ПОЧЕЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КРЫС ДИХЛОРЕТАНОМ..... 20
- Г.И. Сидорин, Л.В. Луковникова, Л.И. Дьякова, Г.В. Шестова**
ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ РАЗВИТИЯ НЕЙРОПАРАЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ОГНЕСТОЙКИХ ТУРБИНЫХ МАСЕЛ НА ОСНОВЕ ТРИАРИЛФОСФАТОВ 27
- А.С. Радилев, С.А. Солнцева, И.Е. Шкаева, С.А. Дулов, Е.В. Вивуланец, Г.А. Протасова, Л.В. Шабашева, О.С. Никулина**
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ (ПДК) ДИОКИЛТЕРЕФТАЛАТА В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ..... 34
- О.В. Бударина, Л.А. Федотова, З.В. Шипулина, Т.Д. Потапченко**
ОБОСНОВАНИЕ МАКСИМАЛЬНЫХ РАЗОВЫХ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ 1-МЕТИЛ-4-ИЗОПРОПЕНИЛЦИКЛОГЕКСЕНА-1 (ЛИМОНЕН), 3,7,7-ТРИМЕТИЛБИЦИКЛО[4.1.0]ГЕПТ-2-ЕНА (3-КАРЕН) И 2,2-ДИМЕТИЛ-3-МЕТИЛЕНБИЦИКЛО[2.2.1]ГЕПТАНА (КАМФЕН) В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ..... 39
- М.С. Степанков**
ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ ТОКСИЧНОСТИ НАНОДИСПЕРСНОГО ОКСИДА МАГНИЯ ПРИ МНОГОКРАТНОМ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ..... 45
- **Экологическая токсикология**
- Т.В. Герунов**
ИММУНОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ИВЕРМЕКТИНА У ПРОДУКТИВНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ..... 49
- Л.С. Бондаренко, П.В. Учанов, Н.Г. Чистякова, В.А. Терехова, К.А. Кыдралиева**
ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НА МОДИФИКАЦИЮ БИОАКТИВНОСТИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ..... 54
- **Некролог**
ПАМЯТИ ЛИВАНОВА ГЕОРГИЯ АЛЕКСАНДРОВИЧА 61
- **Съезды, конференции, совещания**
60-е СОВМЕСТНОЕ ЗАСЕДАНИЕ КОМИТЕТА ОЭСР ПО ХИМИИ И РАБОЧЕЙ ГРУППЫ ОЭСР ПО ХИМИИ, ПЕСТИЦИДАМ И БИОТЕХНОЛОГИИ..... 62
- G.N. Zarafiants, V.D. Isakov, T.V. Gorbacheva**
QUESTIONS OF DYNAMICS, FORENSIC MEDICAL AND FORENSIC CHEMICAL DIAGNOSTICS OF METHADONE POISONING IN SAINT PETERSBURG IN 2009-2018..... 2
- M.B. Ivanov, M.V. Aleksandrov, V.S. Chernyi**
CARDIOVASCULAR INDICATORS AFTER ACUTE NEUROTOXIC POISONING 8
- G.V. Timasheva, E.F. Repina, D.O. Karimov, N.Yu. Khusnutdinova, G.F. Mukhammadieva, A.B. Bakirov, D.A. Smolyankin, S.S. Baigildin**
PECULIARITIES OF METABOLIC CHANGES IN EXPERIMENTAL ANIMALS AT EARLY TERMS OF PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF TOXIC LIVER DISEASES..... 13
- K.V. Sivak, T.N. Savateeva-Lyubimova, T.A. Gus'kova, G.N. Kul'bitskiy, M.L. Alexandrova**
BIOLOGICAL MARKERS AND MORPHOGENESIS OF ACUTE RENAL INJURY IN RAT DICHLOROETHANE POISONING..... 20
- G.I. Sidorin, L.V. Lukovnikova, L.I. Dyakova, G.V. Shestova**
TOXICITY AND HAZARD OF NEUROPARALYTIC ACTION OF FIRE-RESISTANT TURBINE OILS BASED ON TRIARYL PHOSPHATES..... 27
- A.S. Radilov, S.A. Solntseva, I.E. Shkaeva, S.A. Dulov, E.V. Vivulanets, G.A. Protasova, L.V. Shabashева, O.S. Nikulina**
EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE MAXIMUM ALLOWABLE CONCENTRATION OF DIOCTYL TEREPHTHALATE IN THE AIR OF THE WORKING AREA 34
- O.V. Budarina, L.A. Fedotova, Z.V. Shipulina, T.D. Potapchenko**
JUSTIFICATION OF MAXIMUM SINGLE ALLOWABLE CONCENTRATIONS OF 1-METHYL-4-ISOPROPENYLCYCLOHEX-1-ENE (LIMONENE), 3,7,7-TRIMETHYLBICYCLO[4.1.0]HEPT-2-ENE (3-CARENE) AND 2,2-DIMETHYL-3-METHYLENEBICYCLO[2.2.1]HEPTANE (CAMPHERE) IN AMBIENT AIR 39
- M.S. Stepankov**
RESEARCH AND EVALUATION OF THE TOXICITY PARAMETERS OF NANO-DISPERSED MAGNESIUM OXIDE IN REPEATED INHALATION EXPOSURE..... 45
- **Ecotoxicology**
- T.V. Gerunov**
IMMUNOTROPIC EFFECTS OF IVERMECTIN IN PRODUCTIVE AND LABORATORY ANIMALS..... 49
- L.S. Bondarenko, P.V. Uchanov, N.G. Chistyakova, V.A. Terekhova, K.A. Kydraliova**
INFLUENCE OF HUMIC ACIDS ON THE MODIFICATION OF THE BIOACTIVITY OF MAGNETIC NANOPARTICLES..... 54
- **Obituary**
IN MEMORY OF LIVANOV GEORGY ALEXANDROVICH 61
- **Congresses, conferences, meetings**
60TH JOINT MEETING OF THE OECD COMMITTEE ON CHEMISTRY AND THE OECD WORKING GROUP ON CHEMISTRY, PESTICIDES AND BIOTECHNOLOGY..... 62

ВОПРОСЫ ДИНАМИКИ, СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ И СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОТРАВЛЕНИЙ МЕТАДОНОМ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2009-2018 ГОДАХ

Г.Н. Зарафьянц¹, В.Д. Исаков²,
Т.В. Горбачева²

¹«ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет» (СПбГУ),
медицинский факультет, кафедра
патологии, 199034,
г. Санкт-Петербург, Российская
Федерация

²Санкт-Петербургское ГБУЗ «Бюро
судебно-медицинской экспертизы»,
195067, г. Санкт-Петербург, Российская
Федерация

В РФ в структуре смертности от внешних причин острые отравления занимают одно из ведущих мест. В СПб отмечают стабильно высокие показатели отравлений наркотическими средствами (НС), особенно метадон. Материалом для исследования и анализа служили отчеты, статистические карты и другие сведения СПб ГБУЗ Бюро судебно-медицинской экспертизы за 2009 – 2018 гг. Методами исследования была выборочная выкопировка данных, в том числе результатов судебно-химического исследования (СХИ), расчет статистических коэффициентов, описательный. Проведенный анализ показал снижение смертности от внешних причин в Санкт-Петербурге в 2009-2018 гг., показатели (на 100 тыс. населения СПб) постепенно уменьшались с 99,3 до 69,8. Острые отравления химической этиологии (ООХЭ) были на 2-м месте (24,9%) после механической травмы. В структуре ООХЭ 1-е место занимали смертельные отравления наркотическими веществами (45,1%). В 2009-2011 годах их доля составляла 28,7%, а в период 2012-2018 гг. резко возросла (52,2%) и начала качественно и количественно меняться. В СПб в 2009 г. было 19 смертельных случаев отравлений метадонем (0,04 на 100 тыс. населения), а в 2018 году – 599 случаев (11,19). Резко увеличилось (в 9 раз) количество СХИ по идентификации метадона. Почти в половине случаев отравлений, наряду с метадонем, при СХИ выявляли этанол, другие НС (производные амфетамина, морфин, кокаин и др.), а также лекарственные и психотропные вещества (производные барбитуровой кислоты, бензодиазепа, фенотиазина и др.). Судебно-медицинская диагностика отравлений метадонем основана на результатах СХИ с применением хромато-масс-спектрометрии, морфологических признаках (макро- и микроскопических), анализе клинической картины (из медицинских документов), учёте обстоятельств отравления. Сочетанный приём метадона, этанола и других НС и/или ПВ оказывает потенцирующее депримирующее действие, утяжеляет клинико-морфологическую картину отравления, что необходимо учитывать при их диагностике.

Ключевые слова: отравление метадонем, судебно-медицинская диагностика острых отравлений химической этиологии, смертность от отравлений в СПб, сочетанное действие метадона, этанола и других наркотиков.

Цит.: Г.Н. Зарафьянц, В.Д. Исаков, Т.В. Горбачева. Вопросы динамики, судебно-медицинской и судебно-химической диагностики отравлений метадонем в Санкт-Петербурге в 2009-2018 годах. Токсикологический вестник. 2020; 1: 2-7.

Введение. Общемировым трендом является высокий уровень злоупотребления наркотическими и психотропными веществами, в частности опиоидами. Среди них очень распространён метадон (6-(диметиламино)-4,4-дифенилгеп-

танон-3), производное фенилгептанона, синтетический агонист опиатных рецепторов, имеющий высокое сродство к μ -опиоидным рецепторам и являющийся μ -агонистом длительного действия. В терапевтических дозах оказы-

Зарафьянц Галина Николаевна (Zarafiants Galina Nikolaevna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент, выполняющий лечебную работу кафедры патологии медицинского факультета СПбГУ, g.zarafiyants@spbu.ru, ORSID 0000-0002-3532-3980

Исаков Владимир Дмитриевич (Isakov Vladimir Dmitriyevich), доктор медицинских наук, профессор, заместитель начальника по экспертной работе Санкт-Петербургского ГБУЗ «Бюро судебно-медицинской экспертизы», sudmed@zdrav.spb.ru, ORSID 0000-0002-0093-1230

Горбачева Татьяна Васильевна (Gorbacheva Tatiana Vasilevna), кандидат фармацевтических наук, заведующая судебно-химическим отделением Санкт-Петербургского ГБУЗ «Бюро судебно-медицинской экспертизы», Tv-gorbacheva@yandex.ru, ORSID 0000-0003-2246-0270

ваает анальгезирующее и седативное действие. При злоупотреблении клиническая картина сходна с опьянением от употребления опиоидных алкалоидов, но более продолжительного действия. Средняя биодоступность метадона при энтеральном приёме 70-80%, парентеральном – 100%, ректальном – 76%. Период полувыведения метадона после однократной дозы составляет в среднем 55 часов, при хроническом приеме 22-25 часов. Эффект эйфории выражен меньше по сравнению с действием героина. С лечебными целями метадон назначают для длительного применения внутрь в стабильной дозе, в том числе, для «подавления» влечения к героину. Это послужило основанием для его использования в качестве средства заместительной терапии героиновой наркомании в США, а затем и в других западных странах и, наконец, в 90-е годы в России. Однако оказалось, что метадон очень быстро вызывает привыкание и тяжелый абстинентный синдром при отмене. Формируется «метадонная наркомания», которая под вывешкой «метадонная программа» заменяет героиную наркоманию [1]. В 1999 г. член Международного комитета по контролю за наркотиками О. Шредер сообщил об увеличении смертности в 2 раза от применения метадона. Сообщалось, в частности, о 240 умерших от метадона в Германии. J. Goldz [2] указывал, что больные могли умереть не только от изолированного приёма метадона, но и от сочетанного потребления с «уличными наркотиками», бензодиазепином и алкоголем. В настоящее время в Республике Беларусь метадон разрешён к контролируемому обороту и используется для лечения больных с опиатной зависимостью. В то же время, в Минске ежегодно удельный вес нелегального употребления метадона с целью одурманивания составляет от 9% до 16% от общего количества употребления психоактивных веществ (ПВ) [3]. В нашей стране в 1998 г. метадон был включён в Список I Перечня наркотических средств и психотропных веществ, оборот которых в Российской Федерации запрещён [4]. Однако, «джин уже выпущен из кувшина». По данным различных источников отмечается увеличение распространения метадонной наркомании в России, в том числе в Санкт-Петербурге. Так, по данным ГБУ СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе удельный вес пострадавших, госпитализированных по поводу отравления метадонном в структуре всех наркотических отравлений, увеличился с 9,4% в 2012 г. до 83% в 2016 г. [5]. Количество больных, госпитализированных в клинику военно-полевой терапии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова с диагнозом отравление метадонном составляло 8% в 2000 г. и 35,2% в 2015 г. (увеличение в 4,4 раза), общее

количество больных с отравлением наркотическими веществами увеличилось в 24,5 раза (с 2% в 2000 г. до 48,4% в 2015 г.) [6]. По данным Роспотребнадзора по Ленинградской области в 2015 г. удельный вес отравлений метадонном среди острых наркотических отравлений составил 45,5%, среди смертельных наркотических отравлений – 72,0%, в 2016 г. соответственно 36,2% и 61,5%; в 2017 г.: 75,4% и 95,8% [7].

Цель исследования. Изучение и анализ частоты и динамики смертельных отравлений метадонном в структуре острых отравлений химической этиологии и наркотических средств в Санкт-Петербурге в 2009–2018 гг., а также судебно-медицинской и судебно-химической диагностики отравлений метадонном (в том числе на фоне употребления этанола, других наркотических средств и психотропных веществ).

Материалы и методы исследования. Материалом для анализа послужили статистические карты, отчеты, судебно-медицинские документы, результаты судебно-химического исследования/экспертизы СПб ГБУЗ БСМЭ за 2009–2018 гг. Методы исследования: выборка данных (в том числе результатов СХИ) по выявлению метадона и/или его метаболитов, НС, ПВ, этанола, расчёт статистических коэффициентов, описательный.

Для идентификации метадона и его метаболита, этанола, других НС, ПВ в судебно-химическом отделении использовали метод газовой хроматографии с масс-спектральным детектированием (Agilent 7890/5975, США). Во всех анализируемых случаях определяли наличие или отсутствие этанола и его концентрацию в крови и моче методом газожидкостной хроматографии.

Результаты и обсуждение. За исследуемый период времени (2009-2018 гг.) в г. Санкт-Петербурге наблюдалось снижение смертности от воздействия факторов внешней среды (далее в тексте – от внешних причин), в том числе и от острых отравлений. Этот показатель (в пересчёте на 100 тыс. населения СПб, ‰) составлял: 99,3 в 2009 г.; 86,1 в 2010 г.; 81,6 в 2011 г.; 83,9 в 2012 г.; 87,9 в 2013 г.; 87,4 в 2014 г.; 84,2 в 2015 г.; 76,0 в 2016 г.; 75,7 в 2017 г.; 69,8 в 2018 г.

В структуре смертности от внешних причин острые отравления химической этиологии (ООХЭ) устойчиво занимали второе место (24,9%) после механической травмы. Их доля в анализируемый период времени составляла: 21,4% (2009 г.); 20,1% (2010 г.); 18,4% (2011 г.); 22,5% (2012 г.); 29,1% (2013 г.); 29,9% (2014 г.); 29,1% (2015 г.); 30,7% (2016 г.); 25,6% (2017 г.); 22,0% (2018 г.).

Среди ООХЭ первое место занимали смертельные отравления наркотическими средствами

ми (45,1%). В 2009-2018 гг. их доля начала качественно и количественно меняться. В 2009-2011 гг. доля отравлений НС в структуре ООХЭ составляла 28,7%, и это были, в основном, отравления опиатами (героин, морфин и др.). А в период с 2012 г. по 2018 г. произошло резкое увеличение доли отравлений НС до 52,2%, с преимущественным отравлением синтетическими опиоидами (метадоном).

В группе смертельных отравлений НС отравления опиоидами (в том числе и опиатами) составляли 80,8% . По годам соответственно: в 2009 г. – 77,9%; в 2010 г. – 71,3%; в 2011 г. – 87,7%; в 2012 г. – 89,9%; в 2013 г. – 96,1%; в 2014 г. – 96,3%; в 2015 г. – 97,8%; в 2016 г. – 97,6%; в 2017 г. – 92,8%; в 2018 г. – 98,2%.

Количество диагностированных смертельных отравлений метадоном (подтвержденных также результатами СХИ) и показатель смертности в пересчёте на 100 тыс. населения г. СПб приведены в таблице 1.

Таким образом, в СПб произошёл значительный рост количества смертельных отравлений метадоном с 19 случаев в 2009 г. (0,04 на 100 тыс. населения), до 599 случаев в 2018 г. (11,19). А также резко возросла доля отравлений метадоном с 0,9% до 99% среди всех смертельных отравлений опиоидами.

При формулировании судебно-медицинского диагноза отравления, одним из важнейших до-

казательств являются результаты судебно-химического исследования (СХИ). Во всех наших наблюдениях судебно-медицинские эксперты направляли биологические объекты от трупов людей, предположительно умерших от отравления метадоном и/или другими НС и ПВ на СХИ. Согласно Приказу 346н [8] изымали: кровь, мочу, желчь, печень, почку, содержимое желудка. При парентеральном введении метадона, наряду с перечисленными объектами, эксперты направляли на СХИ мягкие ткани из места/области инъекции. Для выявления этанола направляли на СХИ кровь из периферических сосудов и мочу.

Как известно, метаболизм метадона происходит главным образом в печени путем деметилирования с образованием около 10 метаболитов, большинство из которых фармакологически неактивны. Однако обнаружение основного метаболита метадона: 2-этилиден-1,5-диметил-3,3-дифенилпирролидина (ЭДДП) имеет важное диагностическое значение, поскольку является прямым свидетельством употребления метадона. Смертельная концентрация метадона мг/л (мк/кг): в крови 1,0 (0,4-1,8); в ткани головного мозга 1,0 (0,5-1,4); в печени 3,8 (1,8-7,5); в желчи 7,5 (2,9-18,0); в почках 2,9 (1,1-6,0), в моче 7,3 (2,8-16,0).

Применение в судебно-химических отделениях Бюро судебно-медицинской экспертизы современных высокочувствительных методов,

Таблица 1

Смертельные отравления метадоном в СПб в 2009-2018 гг. (судебно – медицинские данные)

Показатели	Годы									
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Количество случаев (абс.)	19	43	108	317	460	560	562	572	645	599
В пересчёте на 100 тыс. населения ‰	0,04	0,08	2,20	6,40	9,15	10,3	10,82	10,95	12,21	11,19
Доля в группе всех отравлений опиоидами	0,9%	22%	47%	63%	69%	74%	87%	97%	93%	99%

Таблица 2

Количество случаев выявления метадона и/или его метаболита в аутопсийном материале при судебно-химическом исследовании в СПб ГБУЗ БСМЭ в 2009-2018 гг.

Годы	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Количество случаев (абс.) идентификации метадона	76	99	218	467	632	680	653	627	721	717
Доля (%) в идентификации всех НС	14,5	18,4	41,3	56,7	57,4	61,0	72,1	78,4	78,8	76,3

в частности хроматомасс-спектрометрии, позволило с большой точностью определять отравляющие вещества, в частности, метадон, этанол, другие НС, ПВ в биоматериале. За последние 10 лет в СПб резко увеличилось количество исследований по идентификации метадонона и/или его основного метаболита ЭДДП при СХИ в Бюро судебно-медицинской экспертизы (табл. 2).

Как следует из таблиц 1 и 2 количество случаев идентификации метадонона и судебно-медицинского диагноза смертельного отравления метадоном не совпадают. Например, в 2009 г. метадон был выявлен при СХИ в 76 случаях, а судебно-медицинский диагноз отравления метадоном был поставлен только в 19 случаях. Это связано не только с фактом выявления метадонона и/или метаболита ЭДДП в различных органах и тканях трупа, но и с наличием или отсутствием других критериев диагностики смерти от отравления, анализируемых в каждом конкретном случае.

Почти в половине рассматриваемых случаев (48%), при СХИ, наряду с метадоном, выявляли этанол (от 0,3‰ до 2,6‰), другие НС, ПВ и лекарственные вещества (морфин, демерол, трамадол, α -PVP, амфетамин, метамфетамин, кокаин, феназепам, фенобарбитал, тропикамид, димедрол, карбамазепин и др.).

Судебно-медицинская диагностика отравления метадоном, наряду с результатами СХИ, основана также на анализе морфологических признаков (макро- и микроскопических); клинической картины отравления (по медицинским документам), с учётом обстоятельств отравления.

В большинстве анализируемых случаев (90,1%) смерть потерпевших наступала на месте происшествия. Эксперты анализировали сведения из «Протокола осмотра места происшествия», катанез, обстоятельства отравления. При смерти потерпевшего от отравления метадоном в стационаре (8,9%), судебно-медицинские эксперты изучали медицинские карты стационарного больного. В «Акте судебно-медицинского исследования трупа» отмечали состояние больных при поступлении: тяжёлое (70,4%), средней тяжести (29,6%); нарушение сознания: глубокий сон (4,6%), поверхностная кома (63,2%), глубокая кома (32,2%). Клиническая картина отравления зависела от периода госпитализации. В 1-м: возбуждение, эйфория, гиперемия лица, увеличение частоты сердечных сокращений и частоты дыхания. Во – втором: заторможенность, сонливость, бледность кожи лица, миоз, снижение частоты сердечных сокращений и частоты дыхания, рвота, угнетение перистальтики кишечника и мочеиспускания. В третьем (наркотическом периоде): утрата сознания (кома

I-III), рефлексов, миоз, редкое, поверхностное дыхание, брадикардия, а также рабдомиолиз. При этом имелись признаки нарушения дыхания центрального генеза, без реакции на введение налоксона. При проведении химико-токсикологических исследований в стационаре (ХТИ) в моче пострадавших были позитивные тесты на опиоиды (метадон), и, одновременно, в ряде случаев – позитивная реакция на опиаты, каннабиноиды.

Непосредственной причиной смерти от отравления метадоном в токсикогенной стадии были паралич дыхательного и сосудодвигательного центров, отёк головного мозга и другие, в соматогенной – различные осложнения (полиорганная недостаточность).

Судебно-медицинские эксперты выявляли морфологические признаки острого отравления метадоном при смерти в токсикогенной стадии на месте происшествия или в стационаре. А именно: миоз; колотые ранки (свежие следы от инъекции при парентеральном введении) и следы на руке от сдавления жгутом; частицы непереваренных таблеток в желудке при пероральном пути введения; общеасфиктические признаки; токсический отёк лёгких. В случаях смерти в соматогенной стадии отравления выявляли признаки токсического гепатита, миокардита, энцефалопатии, нефропатии; рабдомиолиза; дистрофические изменения во всех внутренних органах, инфекционные осложнения (трахеобронхит, пневмония и др.). В некоторых случаях, наряду с морфологическими признаками острой метадоновой интоксикации, были выявлены признаки хронической метадоновой наркомании: следы от инъекций различной давности и локализации; флебиты; миозиты; миофиброз; гранулёмы в лёгких, печени, головном мозге (при внутривенном введении измельчённых таблеток метадонона); истощение; трофические изменения кожи и ее придатков; признаки ВИЧ-инфекции; вирусного гепатита В, С, D.

В случаях смерти от острого отравления метадоном при его изолированном приеме или совместно с лекарственными веществами, не обладающими психотропным действием и не относящимся к сильнодействующим средствам, формулируют моноказуальный диагноз. Примером заполнения п. 19 в бланке «Врачебного свидетельства о смерти» может служить следующий:

- а) отёк головного мозга и лёгких
- в) отравление метадоном Т40.3
- г) случайное отравление Х49.0

Судебно-медицинские эксперты и врачи-клиницисты также должны уделять внимание тому факту, что почти в половине (48%) рассматриваемых случаев смертельной интоксикации, потерпевшие, наряду с метадоном, принимали

этанол, два-три наркотических средства и/или психотропных вещества. Например, в 16% случаев метадон был определен в сочетании с различными производными амфетамина (амфетамин, метамфетамин); в 12,9% – с морфином; в 2,5% случаев – с кокаином; в 0,3% – с α -PVP, а также совместно с феназепамом, фенобарбиталом, трамадолом, тропикамидом и карбамазепином.

Диагностика таких отравлений имеет свои особенности. С чем это связано? С несколькими факторами. Клинико-морфологическая картина алкогольно-метадоновой интоксикации, морфин-метадоновой интоксикации и других сочетаний НС и ПВ всегда более тяжелая, так как определяется не просто суммой действия двух наркотиков, а результатом их взаимодействия/взаимоотягощения. Кроме того, для правильного формулирования диагноза необходимо проведение судебно-химического исследования (СХИ) биоматериала. В связи с отсутствием в нашей стране аналитических образцов метадона, проведение количественных определений метадона в биологических объектах не представляется возможным. Поэтому оценка воздействия метадона на организм человека должна основываться на механизмах токсического действия наркотического средства – угнетение дыхания и сердечной деятельности, приводящих к кислородной недостаточности, коме с дальнейшей полной остановкой дыхания и сердцебиения. Указанные проявления могут быть выявлены, как при макро- так и микроскопическом исследовании погибших. Также учитывать факт обнаружения других токсикантов в биологических объектах, возраст, сопутствующую патологию, длительность приема, индивидуальные особенности и т.д.

При формулировании диагноза, а также выводов о причине смерти необходимо учитывать факт сочетанного приема токсикантов. Приводим примеры возможного формулирования диагноза при сочетанном приеме метадона и других наркотических средств, психотропных веществ: «Острое отравление наркотическими вещества-

ми из группы опиоидов: метадоном и морфином на фоне алкогольного опьянения»; «Острое отравление наркотическим веществом опиоидом – метадоном и лекарственными препаратами психотропного действия (снотворными и транквилизаторами)». Обосновывают диагноз клинической картиной отравления, морфологическими признаками, результатами судебно-химического и/или химико-токсикологического исследования биоматериала с учетом обстоятельств отравления.

В выводах необходимо указать на усиление (синергизм, потенцирование) токсического эффекта НС и ПВ при их совместном приеме.

Выводы.

В Санкт-Петербурге в 2009-2018 гг. снизилась смертность от внешних причин (с 99,3 до 69,8. на 100 тыс. населения СПб), в том числе от отравлений.

В структуре насильственной смерти острые отравления химической этиологии (ООХЭ) занимали второе место (24,9%) после механической травмы.

Среди ООХЭ первое место занимали отравления наркотическими средствами (45,1%), с количественными изменениями (в 2009-2011 гг. доля 28,7%, а в 2012-2018 гг. - 52,2%), и качественными (в 2009-2011 гг. преобладали отравления опиатами – морфином, героином, а в 2012-2018 гг. опиоидами, в основном, метадоном).

За анализируемый период времени (2009-2018 гг.) количество позитивных судебно-химических исследований по идентификации метадона резко возросло (более чем в 9 раз).

Количество смертельных случаев отравлений метадоном в СПб резко увеличилось (от 19 до 599 случаев или от 0,04 до 11,19 на 100 тыс. населения), возросла их доля в группе отравлений опиоидами (от 0,9% до 99%).

Почти в половине случаев (48%), токсическое депримирующее действие метадона было потенцировано сочетанным приемом этанола, других НС, ПВ, что необходимо учитывать при клинической и судебно-медицинской диагностике отравлений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванец Н.Н., Альшулер В.Б. «Заместительная терапия» наркомании метадоном и другими опиоидными наркотиками: происхождение, суть и тенденции. Вопросы наркологии. 2004; (2): 3-7.
2. Goldz J. Moderne Suchtmedizin. Thieme. 1999.
3. Шилейко И.Д., Чубуков А.М., Александров П.А. Изучение динамики распространенности психоактивных веществ среди наркопотребителей Минска. Психиатрия. 2010; (1):34-40.
4. Постановление Правительства РФ от 30 июня 1998 г. № 681 «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации».
5. Ливанов Г.А., Лоладзе А.Т., Батоцыренов Б.В., Лолягин А.Н., Глушков С.И., Харитонов Т.В. и др. Острые отравления метадоном (дольфинном) (обзор). Общая реаниматология. 2017;13(3):48-63.
6. Музуров К.В., Ю. Халимов Ю.Ш., Башарин В.А., Фомичёв А.В., Кузьмич И.Г., Ветряков О.В. и др. Динамика структуры острых отравлений по данным отделения реанимации и интенсивной терапии клиники военно-полевой терапии Военно-медицинской академии им. Кирова за период 2000-2015 гг. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2016; (55): 23-25
7. Результаты ведения токсикологического мониторинга на территории Ленинградской области за 1 квартал 2017 г. <https://docplayer.ru/64901319-Rezultaty-vedeniya-toksikologicheskogo-monitoringa-na-territorii-leningradskoy-oblasti-za-1-kvartal-2017-g.html>.
8. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 12 мая 2010 г. № 346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации».
9. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 27 января 2006 года № 40 г. Москва «Об организации проведения химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ».
10. Руководство по судебно-медицинской экспертизе отравлений./ Под ред. Р.В. Бережного, Я.С. Смузина, В.В. Томила, П.П. Ширинского. М Медицина 1980. 416 с.

REFERENCES:

1. Ivanets H.H., Al'tshuhler V.B. «Replacement therapy» of drug addiction methadone and other opioid drugs: origin, essence and trends. Questions of narcology. 2004; (2): 3-7 (in Russian).
2. Goldz J. Moderne Suchtmedizin. Thieme. 1999.
3. Shileyko I.D., Chubukov A.M., Aleksandrov P.A. Studying of dynamics of prevalence of psychoactive substances among drug users of Minsk. Psychiatry. 2010; (1):34-40 (in Russian).
4. Resolution of the Government of the Russian Federation of June 30, 1998 № 681 «About the approval of the list of the drugs, psychotropic substances and their precursors which are subject to control in the Russian Federation» (in Russian).
5. Livanov G.A., Loladze A.T., Batotsyrenov B.V., Lodyagin A.N., Glushkov S.I., Kharitonova T.V. et al. Acute Poisoning with Methadone (Dolphin) (Review). General Reanimatology. 2017;13(3):48-63. (in Russian)
6. Muzurov K.V., Khalimov Yu.Sh., Basharin V.A., Fomichov A.V., Kuz'mich I.G., Vetryakov O.V. et al. Dynamics of the structure of acute poisonings according to the data of intensive care unit in the Department of the military – field therapy of Military medical academy named after S.M. Kirov during the period 2000-2015. Bulletin of the Russian Military Medical Academy. 2016; 3 (55): 23-25 (in Russian).
7. Results of toxicological monitoring in the territory of the Leningrad Region for the 1st quarter of 2017. Available at: <https://docplayer.ru/64901319-Rezultaty-vedeniya-toksikologicheskogo-monitoringa-na-territorii-leningskoy-oblasti-za-1-kvartal-2017-g.html>.
8. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of May 12, 2010 No. 346n «About the statement of the Order of the organization and production of forensic medical examinations in the public judicial and expert institutions of the Russian Federation» (in Russian).
9. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of January 27, 2006 No. 40 «On the organization of chemical toxicological studies in the analytical diagnosis of the presence in the human body of alcohol, drugs, psychotropic and other toxic substances» (in Russian).
10. Guidelines for the forensic examination of poisoning / red. R.V. Berezhnoy, Ya.S. Smusin, V.V. Tomilin, P.P. Shirinskiy. M.: Medicina 1980. 416 p. (in Russian).

G.N. Zarafiants¹, V.D. Isakov², T.V. Gorbacheva²

QUESTIONS OF DYNAMICS, FORENSIC MEDICAL AND FORENSIC CHEMICAL DIAGNOSTICS OF METHADONE POISONING IN SAINT PETERSBURG IN 2009-2018

¹Saint Petersburg State University, 199034, Saint Petersburg, Russian Federation

²Bureau of Forensic Medical Expertise, 195067, Saint Petersburg, Russian Federation

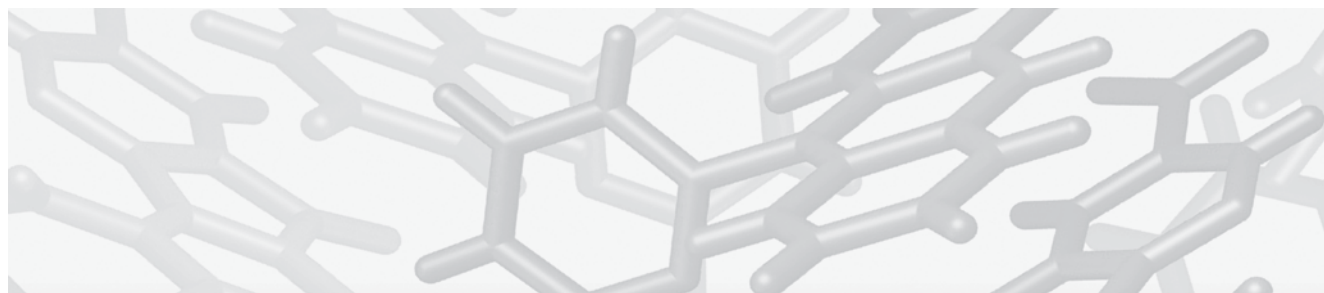
Acute poisonings occupy one of the leading places in the structure of mortality due to external causes in the Russian Federation. In Saint Petersburg, there are consistently high rates of drug poisonings (especially methadone poisoning). Reports, statistical maps and other information of the Bureau of Forensic Medical Expertise for the period 2009 – 2018 were used for this study. The research methods were a selective copy of the data, including the results of a forensic chemical study, the calculation of statistical coefficients, descriptive. The analysis showed a decrease in mortality due to external causes in Saint Petersburg in 2009-2018, indicators (per 100 thousand of the population of Saint Petersburg) decreased gradually from 99,3 to 69,8. Acute poisoning of chemical etiology was in the 2nd place (24,9%) after mechanical injury. In the structure of acute poisoning of chemical etiology, the 1st place was occupied by fatal drug poisoning (45,1%). Their share was 28,7% in 2009-2011. It increased sharply up to 52,2% in the period 2012-2018 and began to change both qualitative and quantitative. In Saint Petersburg there were 19 fatal cases of methadone poisoning (0,04 per 100 thousand people) in 2009 and 599 cases (11,19 per 100 thousand people) in 2018. The number of forensic studies on the identification of methadone sharply increased (9 times). In almost half of the poisoning's cases ethanol, other narcotic drugs (amphetamine derivatives, morphine, cocaine, etc.), as well as drugs and psychotropic substances (derivatives of barbituric acid, benzodiazepine, phenothiazine, etc.) were revealed along with methadone.

Forensic medical diagnostics of methadone poisoning are based on the results of chromatography-mass spectrometry, morphological features (macro- and microscopic), analysis of the clinical picture (from medical documents), and consideration of the circumstances of the poisoning. The combined reception of methadone, ethanol and other narcotic and / or psychotropic drugs has a potentiating deprimitive effect, aggravates the clinical and morphological picture of poisoning, which must be taken into account when diagnosing them.

Keywords: methadone poisoning, forensic medical diagnosis of acute poisoning of chemical etiology, mortality from poisoning in Saint Petersburg, combined action of methadone, ethanol and other drugs.

Quote: G.N. Zarafiants, V.D. Isakov, T.V. Gorbacheva. Questions of dynamics, forensic medical and forensic chemical diagnostics of methadone poisoning in Saint Petersburg in 2009-2018. Toxicological Review. 2020; 1: 2-7.

Переработанный материал поступил в редакцию 8.11.2019 г.



ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВАМИ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

М.Б. Иванов,
М.В. Александров,
В.С. Черный

ФГБУН «Институт токсикологии
Федерального медико-
биологического агентства»
192019, г. Санкт-Петербург,
Российская Федерация

Целью исследования явилась оценка восстановления функций сердечно-сосудистой системы после перенесенного острого отравления веществами нейротоксического действия на момент выписки из стационара. Изучены результаты лечения и наблюдения 28 случаев отравлений средней, тяжелой и крайне тяжелой степени. Оценивались показатели сердечно-сосудистой системы в покое и при проведении ортостатической пробы. Показано, что у лиц, перенесших острое отравление веществами нейротоксического действия, к моменту окончания курса стационарного лечения состояние здоровья полностью не восстанавливается. При оценке показателей сердечно-сосудистой системы установлено, что больные, перенесшие острое отравление нейротоксикантами, на момент выписки из стационара находятся в состоянии выраженной симпатикотонии. У лиц, перенесших острое отравление угарным газом, выявлено выраженное напряжение механизмов регуляции сердечного ритма. У больных с острым пероральным отравлением психотропными препаратами при проведении ортостатической пробы выявлен повышенный тонус симпатического отдела вегетативной нервной системы. Данные ритмокардиографии свидетельствуют о выраженном напряжении механизмов регуляции. Пациенты данной категории требуют дальнейшего наблюдения и медицинской реабилитации.

Ключевые слова: острое отравление, вещества нейротоксического действия, остаточные явления острого отравления, сердечно-сосудистая система, кардиоритмография.

Цит.: М.Б. Иванов, М.В. Александров, В.С. Черный. Показатели сердечно-сосудистой системы после перенесенного острого отравления веществами нейротоксического действия. Токсикологический вестник. 2020; 1: 8-12.

Введение. Общий токсический эффект является результатом специфического токсического действия и неспецифического ответа организма на такое повреждение [1].

Острые отравления, возникающие при воздействии токсических веществ, приводят к нарушению целого ряда функций организма [2, 3, 4]. Неизменно в патологический процесс вовлекается сердечно-сосудистая система, что может проявляться токсическим шоком, нарушениями ритма сердца, острой сердечно-сосудистой недостаточностью [5, 6, 7].

В результате токсических повреждений происходят часто не восстанавливающиеся поражения внутренних органов, оставляющие после себя необратимые изменения. Вызванные

химическим веществом нарушения нормальной структуры или функции органов и систем могут сохраняться или прогрессировать после окончания воздействия этого вещества.

Проявления отравления при прекращении контакта с химическим веществом в виде затухающей симптоматики относят к остаточным явлениям острого отравления. Последствия острого отравления могут проявляться в виде стойких симптомов и синдромов длительное время.

Целью исследования явилась оценка восстановления функций сердечно-сосудистой системы после перенесенного острого отравления веществами нейротоксического действия на момент выписки из стационара.

Иванов Максим Борисович (Ivanov Maksim Borisovich), доктор медицинских наук, директор ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», m.b.ivanov@toxicology.ru

Александров Михаил Всеволодович (Aleksandrov Mikhail Vsevolodovich), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», mdoktor@yandex.ru

Черный Валерий Станиславович (Chernyi Valerii Stanislavovich), доктор медицинских наук, доцент, ученый секретарь ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», 9111208487@mail.ru

Материалы и методы исследования. Для оценки показателей после перенесенного острого отравления нейротоксикантами изучены результаты лечения и наблюдения 28 случаев отравлений. Всего на момент окончания стационарного лечения обследовано 17 мужчин и 11 женщин. Критериями включения были: степень тяжести острого отравления – средняя, тяжелая или крайне тяжелая; ведущий синдром острого периода – сопор, кома I-II степени; возраст обследуемых – 20–45 лет. Средняя продолжительность лечения при интоксикациях составила $16,6 \pm 5,4$ сут.

В первую группу (группа 1) вошли 12 больных с острыми ингаляционными отравлениями продуктами горения (СО). Всем пациентам был проведен курс оксигенотерапии (ОБТ). Парциальное давление кислорода составляло 0,18–0,20 МПа, экспозиция – 60 мин, количество сеансов 7–10. Вторая группа (группа 2) состояла из 16 больных с острыми пероральными отравлениями психотропными препаратами. Данная группа была разделена на две подгруппы: в подгруппе 2.1 (9 больных) проводили стандартную дезинтоксикационную терапию; в подгруппе 2.2 (7 больных) в дополнение к стандартной интенсивной терапии – курс ОБТ. В группу сравнения вошли здоровые лица (18 человек).

В группы не включались лица, находящиеся под наблюдением психиатра и злоупотребляющие психоактивными веществами, страдающие

хроническим алкоголизмом, имеющие выраженную сопутствующую соматическую патологию.

Оценивались показатели сердечно-сосудистой системы в покое и при проведении ортостатической пробы. Определялись: частота сердечных сокращений (ЧСС), артериальное давление (АД). Расчетным способом определялось пульсовое давление (ПД), систолический объем сердца, минутный объем кровообращения (МОК) [8].

Регистрацию кардиоритмографии (КРГ) осуществляли при помощи компьютерного аппаратно-программного комплекса «Мицар-ЭЭГ» (Россия). Вариабельность сердечного ритма оценивалась по следующим общепринятым методам анализа [9]. Рассчитывался суммарный показатель вариабельности сердечного ритма (SDNN), вариационный размах, амплитуда моды, общая мощность спектра. Оценивались параметры волновой структуры КРГ: общая мощность спектра, мощность высокочастотной (HF) и низкочастотной (LF) компоненты и их соотношение (HF/LF) – индекс вагосимпатического взаимодействия.

Качественная и количественная оценка КРГ при активной ортостатической пробе осуществлялась по методике Н.И. Саповой [10]: после 2–3 мин пребывания в горизонтальном положении на кушетке обследуемый самостоятельно вставал в течение 2–3 с и стоял 2–3 мин. Регистрация КРГ продолжалась в течение всего это-

Таблица 1

Показатели сердечно-сосудистой системы у больных, перенесших острое отравление нейротоксикантами, на момент выписки ($M \pm m$)

Параметры, ед. измер.	Группа сравнения, n=18	СО, n=12	Психотропный препарат	
			без ОБТ, n=9	с ОБТ, n=7
Систолическое АД, мм рт. ст.	115,5±1,9	129,1±2,3*	120,2±1,6	122,6±2,4*
Диастолическое АД, мм рт. ст.	71,0±1,7	72,2±3,2	72,4±4,0	74,7±3,3
Пульсовое АД, мм рт. ст.	44,5±1,9	56,9±3,0*	47,1±2,9	47,6±2,9
Среднее гемодинамическое АД, мм рт. ст.	89,1±1,7	92,7±4,1	91,8±5,8	90,2±3,0
Систолический объем сердца, мл	66,7±1,6	72,3±1,9	70,4±2,0	64,4±1,7
МОК, л/мин	4,93±0,10	5,22±0,46	5,1±0,32	4,8±0,41

Примечание: * – различия параметров с группой сравнения достоверны ($p < 0,05$)

го периода времени. Определялись амплитудные показатели: ЧСС лежа (ЧССл), ЧСС стоя (ЧССс), ЧСС максимальная, ЧСС минимальная, перерегулирование P1 (разность между ЧСС максимальной и ЧССс), перерегулирование P2 (разность между ЧСС минимальной и ЧССс), P₀ (разность между ЧССс и ЧССл). Измерялась длительность переходных процессов при ортостатической пробе – время ортостатики (ВО). Кроме того, рассчитывались интегральные показатели качества регулирования ЧСС – площади регулирования ортостатики (ПРО).

Для оценки достоверности различий между полученными показателями использовался t – критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение. При исследовании особенностей функционирования сердечно-сосудистой системы выявлено, что показатели артериального давления (АД) в группах не выходили за пределы нормальных значений (табл. 1).

В то же время отмечены повышенные по сравнению с группой здоровых лиц уровни систолического АД и пульсового АД в группе С0, систолического АД в подгруппе 2.2. Это может быть связано с повышенным тонусом симпатического отдела вегетативной нервной системы.

Проведенное исследование variability сердечного ритма выявило различия в показателях между группами (табл. 2).

Так, анализ волновой структуры синусового ритма (частотный анализ) в группах 1 и 2.1 показал снижение общего влияния регуляторных

контуров на работу сердца. Об этом свидетельствовало сниженное значение общей мощности спектра: в группе 1 этот показатель был ниже контрольной группы в 1,6 раза, в подгруппе 2.1 – в 1,7 раза.

При оценке соотношения волн различного диапазона частот (LF / HF) выявлено, что у больных групп 1 и 2.1 на момент исследования (выписка из стационара) преобладает мощность волн низкой частоты LF (p<0,05). Это отражает повышенную активность симпатических центров продолговатого мозга.

Для больных подгруппы 2.2. соотношение волн различного диапазона частот было близко к значениям, зарегистрированным в группе здоровых добровольцев. Применение ОБТ позволило ускорить протекание восстановительных процессов, что проявилось в положительной динамике регуляторных влияний на деятельность сердца. Так, среднее квадратичное отклонение (SDNN) и общая мощность спектра не отличались от значений контрольной группы и достоверно превышали показатели подгруппы 2.1.

Для уточнения механизмов регулирования сердечной деятельности у обследуемых в группах была проведена функциональная проба. Полученные результаты представлены в таблице 3.

При активной ортостатической пробе определяли первичные и интегральные показатели, оценивали состояние симпатического и парасимпатического эфферентных путей регуляции сердечного ритма. Установлено, что показате-

Таблица 2

Показатели variability сердечного ритма в покое у больных, перенесших острое отравление нейротоксикантами, на момент выписки (M±m)

Параметры, ед. измер.	Группа сравнения, n=18	С0, n=12	Психотропный препарат	
			без ОБТ, n=9	с ОБТ, n=7
ЧСС, мин ⁻¹	64,3±4,8	72,2±5,5*	69,5±6,2	71,2±6,6
SDNN, мс	87,2±5,6	106,9±11,4*	110,1±14,9*	76,8±11,2#
Вариационный размах, с	0,10±0,05	0,09±0,11	0,09±0,11	0,12±0,06
Амплитуда моды, %	62,4±5,7	47±10,1*	51,8±12,1*	58,8±8,2
Общая мощность спектра, мс ²	4204±654	2669±821 *	2430±854 *	3805±760#
HF, %	29,1±2,8	21,1±9,1	23,7±9,6	27,4±5,2
LF, %	38,4±2,5	58,7±8,9 *	61,6±8,8 *	40,1±4,9
LF / HF	1,55±0,08	2,76±0,15 *	2,28±0,16 *	1,48±0,11

Примечание: * – различия параметров с группой сравнения достоверны (p<0,05);

– различия параметров в подгруппах больных с отравлениями психотропными препаратами достоверны (p<0,05).

Таблица 3

Показатели вариабельности сердечного ритма при ортостатической пробе у больных, перенесших острое отравление нейротоксикантами, на момент выписки ($M \pm m$)

Параметры, ед. измер.	Группа сравнения, n=18	СО, n=12	Психотропный препарат	
			без ОБТ, n=9	с ОБТ, n=7
ЧССл, уд./мин	64,2±1,4	72,0±5,1*	69,4±4,2	71,9±4,4
ЧССс, уд./мин	79,8±1,5	102,2±3,0*	94,3±5,2*	99,8±6,4*
Р _о , уд./мин	15,6±1,8	30,1±5,6*	24,8±2,6*	27,9±2,3*
Р ₁ , уд./мин	17,9±2,1	24,3±2,4*	19,2±2,1	19,0±1,5
Р ₂ , уд./мин	7,2±0,4	14,1±3,1*	8,9±1,8	9,1±1,1
ВО, с	64,2±5,3	76,8±5,2*	66,8±4,7	69,2±6,2
ПРО, усл. ед.	3,91±0,9	11,04±2,2*	7,49±1,9*	6,12±1,8

Примечание: * – различия параметров с группой сравнения достоверны ($p < 0,05$)

ли по группам имели различную динамику. Так, количественные характеристики КРГ в группе здоровых лиц не выходили за пределы нормативных величин и проявлялись достаточно низкими значениями ЧССл, ЧССс, Р₁ и временем восстановления сосудистого тонуса (ВО) при изменении положения тела. Это отражало умеренное снижение тонуса симпатического отдела нервной системы.

В группе СО показатели ЧССс, Р_о, Р₁, ВО, ПРО находились в пограничной зоне изменений, что свидетельствует о выраженном напряжении механизмов регуляции. Отмечено усиление симпато-адреналовых влияний в группе СО по сравнению с группой здоровых лиц: ЧССс возросла в 1,3 раза ($p < 0,05$), Р_о – в 1,9 раза ($p < 0,05$). Превышение в группе СО времени переходного процесса ВО ($p < 0,05$) свидетельствует о нарушении равновесия между отделами вегетативной нервной системы в пользу симпатического. Как интегральный показатель качества регуляции сердечного ритма площадь регулирования ортостатики (ПРО) превышала значения контрольной группы в 2,8 раза.

В подгруппах больных с острыми пероральными отравлениями психотропными препаратами при проведении ортостатической пробы также выявлен повышенный тонус симпатического отдела вегетативной нервной системы: значения ЧССс и Р_о были выше, чем эти показатели в контрольной группе ($p < 0,05$).

Заключение. Полученные результаты показали, что у лиц, перенесших острое отравление угарным газом, к моменту окончания кур-

са стационарного лечения состояние здоровья полностью не восстанавливается. При оценке показателей сердечно-сосудистой системы установлено, что больные, перенесшие острое отравление нейротоксикантами, на момент выписки из стационара находятся в состоянии выраженной симпатикотонии. У обследуемых показатели ЧСС при активной ортостатической пробе находились в пограничной зоне изменений. Увеличение Р_о, ВО и ПРО свидетельствовало о выраженном напряжении механизмов регуляции сердечного ритма.

У больных с острым пероральным отравлением психотропными препаратами при проведении ортостатической пробы выявлен повышенный тонус симпатического отдела вегетативной нервной системы: значения ЧССс и Р_о были выше, чем в контрольной группе. Увеличение ВО и ПРО свидетельствует о выраженном напряжении механизмов регуляции сердечного ритма.

Применение ОБТ в группе больных, перенесших отравление ПФП, позволило улучшить субъективное состояние. Ускорение восстановительных процессов подтвердилось положительной динамикой регуляторных влияний на деятельность сердца. Применение ОБТ позволило снизить астеновегетативные проявления после перенесенного острого отравления психофармакологическими препаратами.

Таким образом, на момент выписки из стационара у пораженных угарным газом доминируют выраженные астеновегетативные расстройства. Данное состояние требует проведения медицинской реабилитации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Софронов Г.А., Александров М.В., Головки А.И. [и др.] Экстремальная токсикология. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2010. 256.
2. Александрова Т.В., Шилов В.В., Васильев С.А. [и др.] Состояние мозгового кровотока у больных с тяжелыми отравлениями опиоидами различных групп / Профилактическая и клиническая медицина. 2011; 2-1 (39): 16-19.
3. Белова М.В., Ильяшенко К.К., Пощверия М.М. Особенности токсикогенной стадии острых отравлений психофармакологическими препаратами у пациентов старше 60 лет с позиций токсикометрии / Токсикологический вестник. 2018; 4 (151): 3-9.
4. Лобанов М.М. Актуальные вопросы токсикологии и профпатологии химической этиологии. - Волгоград, 2010. 195 с.
5. Белова М.В., Ильяшенко К.К. Острые отравления препаратами, действующими преимущественно на сердечно-сосудистую систему / Токсикологический вестник. 2016; 5 (140): 31-35.
6. Бортулев С.А. Александров М.В., Шилов В.В. [и др.] Первичные кардиотоксические эффекты / Проф. и клинич. медицина. 2011. Т. 2-1 (39); 2: 45-50.
7. Горичный В.А., Сердюков Д.Ю., Язенок А.В. [и др.] Факторы риска развития начальных проявлений сердечно-сосудистых заболеваний атерогенной этиологии у персонала химически опасных объектов / Токсикологический вестник. 2017; 4 (145): 2-7.
8. Загрядский В.П., Сулимо-Самуйло З.К. Методы исследования в физиологии труда. - Л.: ВМедА, 1991. 112 с.
9. Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. - М.: Наука, 1984. 221 с.
10. Сапова Н.И. Регуляция сердечного ритма человека в комфортных и экстремальных условиях: дис. д-ра мед. наук. - СПб., 1992. 578 с.

REFERENCES:

1. Sofronov G.A., Aleksandrov M.V., Golovko A.I. [i dr.] Extreme toxicology. SPb.: ELBI-SPb, 2010. 256. (in Russian)
2. Aleksandrova T.V., Shilov V.V., Vasil'ev S.A. [i dr.] State of brain blood flow in patients with severe opioid poisoning of various groups / Preventive and clinical medicine. 2011. 2-1 (39). 16-19. (in Russian)
3. Belova M.V., Il'yashenko K.K., Poshveriya M.M. Peculiarities of toxicogenic stage of acute poisoning with psychopharmacological drugs in patients over 60 years of age from the position of toxicometry / Toxicological review. 2018. 4 (151). 3-9. (in Russian)
4. Lobanov M. M. Topical issues of toxicology and profpathology of chemical etiology. - Volgograd, 2010. 195 p. (in Russian)
5. Belova M.V., Ilyashenko K. K. Acute poisoning with drugs acting mainly on the cardiovascular system / Toxicological review. 2016. 5 (140). 31-35. (in Russian)
6. Bortulev S.A. Alexandrov M.V., Shilov V.V. [et al] Primary cardiotoxic effects/ Prof. And clinic. Medicine. 2011. 2-1 (39), 2. 45-50. (in Russian)
7. Gorichnyj V.A., Serdyukov D.Yu., Yazenok A.V. [i dr.] Risk factors for the development of initial manifestations of cardiovascular diseases of atherogenic etiology in personnel of chemically dangerous objects / Toxicological review. 2017. 4 (145). 2-7. (in Russian)
8. Zagryadskij V.P., Sulimo-Samujllo Z.K. Methods of Research in the Physiology of Labor. - L.: WMedA, 1991. 112 p. (in Russian) (in Russian)
9. Baevskij R.M. Kirillov O.I., Kleczkin S.Z. Mathematical analysis of changes in heart rate under stress. - Moscow: Science, 1984. 221 p. (in Russian)
10. Sapova N.I. Regulation of human heart rate in comfortable and extreme conditions: dis.... Dr. Med. Sci. - SPb., 1992. - 578 p. (in Russian)

M.B. Ivanov, M.V. Aleksandrov, V.S. Chernyi

CARDIOVASCULAR INDICATORS AFTER ACUTE NEUROTOXIC POISONING

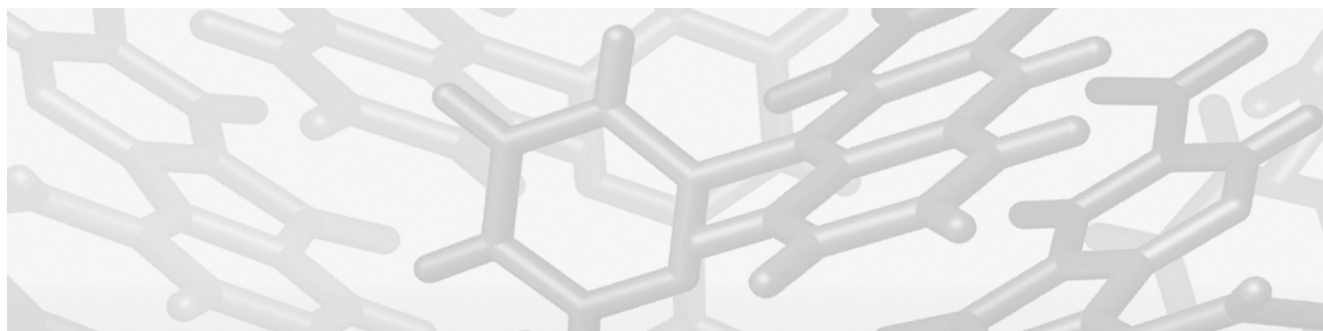
Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

The aim of the study was to assess the recovery of the cardiovascular system after acute poisoning with neurotoxic substances at the time of discharge from the hospital. The results of treatment and observation of 28 cases of moderate, severe and extremely severe poisonings have been studied by the evaluation of indicators of the cardiovascular system at rest and during the orthostatic tests. It has been shown that in persons with acute poisoning with neurotoxic substances, the state of health is not fully restored by the end of the course of inpatient treatment. The indicators of the cardiovascular system showed the state of pronounced sympathicotonia in these patients at the time of discharge from the hospital. Persons with acute carbon monoxide poisoning have a pronounced tension in the mechanisms of regulation of the heart rhythm. In patients with acute oral poisoning with psychotropic drugs, an orthostatic test revealed an increased tone of the sympathetic part of the autonomic nervous system. The data of rhythmocardiography indicate a pronounced tension of the regulation mechanisms. Patients in this category require further observation and medical rehabilitation.

Keywords: acute poisoning, neurotoxic substances, residual effects of acute poisoning, cardiovascular system, cardiorythmography.

Quote: M.B. Ivanov, M.V. Aleksandrov, V.S. Chernyi. Cardiovascular indicators after acute neurotoxic poisoning. Toxicological Review. 2020; 1: 8-12.

Материал поступил в редакцию 29.11.2019 г.



ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ НА РАННИХ СРОКАХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ

Г.В. Тимашева,
Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов,
Н.Ю. Хуснутдинова,
Г.Ф. Мухаммадиева,
А.Б. Бакиров, Д.А.
Смолянкин, С.С. Байгильдин

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

Резюме. В работе представлены результаты исследований метаболических изменений в организме экспериментальных животных при остром поражении тетрахлорметаном и коррекции повреждений с использованием соединений, обладающих гепатопротекторными свойствами: оксиметилурацила, адеметионина и этилметилгидроксипиридина сукцината. Выявлено, что оксиметилурацил проявляет гепатопротекторные свойства на самых ранних этапах острого токсического поражения печени химическими токсикантами: обладает мембраностабилизирующими свойствами, нормализует уровни показателей антиоксидантной системы, тем самым, восстанавливает оксидантно-антиоксидантное равновесие в гепатоцитах. Установлены более выраженные гепатопротекторные свойства оксиметилурацила на ранних этапах лечения по сравнению с адеметионином и этилметилгидроксипиридина сукцинатом. Полученные результаты имеют важное значение в плане перспективного использования ОМУ для купирования гепатотоксического эффектов при острых воздействиях гепатотропных химических веществ в условиях экологических и промышленных отравлений.

Ключевые слова: острое токсическое поражение печени, тетрахлорметан, печень, оксиметилурацил, гепатопротекторы, метаболические изменения.

Цит.: Г.В. Тимашева, Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов, Н.Ю. Хуснутдинова, Г.Ф. Мухаммадиева, А.Б. Бакиров, Д.А. Смолянкин, С.С. Байгильдин. Особенности метаболических изменений у экспериментальных животных на ранних сроках фармакологической коррекции токсических поражений печени. Токсикологический вестник. 2020; 1: 13-19.

Введение. В настоящее время остается весьма актуальной проблема острых отравлений химическими веществами на производстве, при интоксикации которых ведущим синдромом является поражение печени. Высокая чувствительность органа к химическим соединениям определяется тем, что это первый орган, стоящий на пути ксенобиотика, резорбировавшегося в организм.

А также, это основной орган, ответственный за метаболизм токсикантов. Практически при любом поражении печени токсико-химической этиологии имеют место метаболические нарушения и повреждение, одним из первых звеньев в цепочке токсогенеза является мембраноповреждающий эффект [1,2,3,4], опосредованный в том числе активацией свободно-радикальных

Тимашева Гульнара Вильевна (Timasheva Gulnara Vilevna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», gulnara-vt@yandex.ru
Репина Эльвира Фаридовна (Repina Elvira Faridovna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e.f.repina@bk.ru
Каримов Денис Олегович (Karimov Denis Olegovich), кандидат медицинских наук, заведующий отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», karimovdo@gmail.com
Хуснутдинова Надежда Юрьевна (Khusnutdinova Nadezhda Yurevna), научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», h-n-yu@yandex.ru
Мухаммадиева Гузель Фанисовна (Mukhammadieva Guzel Fanisovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных, ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», ufniimt@mail.ru
Бакиров Ахат Бариевич (Bakirov Ahat Barievich), доктор медицинских наук, профессор, академик АН РБ, директор ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», ufniimt@mail.ru;
Смолянкин Денис Анатольевич (Smolyankin Denis Anatolevich), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Smolyankin.denis@yandex.ru
Байгильдин Самат Сагадатович (Baigildin Samat Sagadatovich), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», baigildin.samat@yandex.ru.

процессов, а именно перекисным окислением липидов (ПОЛ) [5,6]. При развитии окислительного стресса при инициации ПОЛ изменяется соотношение прооксидант/оксидант, происходит прямое повреждающее действие ксенобиотиков на мембраны с развитием цитолиза на клеточном уровне, который расценивается как начальный механизм гипоксического и свободно-радикального некробиоза. Известно, что гепатопротекторное действие многих часто применяемых лекарственных средств, направлено на восстановление функций клеточных мембран и стабилизацию антиоксидантных свойств [5,7,8,9,10,11,12]. В настоящее время широко используются препараты адеметионин и этилметилгидроксипиридина сукцинат (международные непатентованные названия), обладающие гепатопротекторными, антиоксидантными, детоксикационными и мембранопротекторными свойствами [3, 13, 14, 15].

В работах Мышкина В.А. и соавторов [16, 17, 18, 19, 20, 21, 22] установлены гепатопротекторные свойства пиримидиновых производных: оксиметилурацила (ОМУ) и его производных на моделях поражения печени дихлорэтаном, полихлорированными бифенилами в сочетании с этанолом, тетрахлорметаном (ТХМ) на крысах зрелого возраста и на более длительных сроках интоксикации. Защитный эффект ОМУ свидетельствует о неспецифическом характере изменений резистентности организма под влиянием этого препарата: установлена высокая активность ОМУ в качестве ингибитора процессов ПОЛ, способность усиливать репаративные процессы, что свидетельствует о мембранопротективных свойствах ОМУ. В связи с этим, очевидна целесообразность изучения корректирующего влияния ОМУ и других соединений с гепатопротекторными свойствами на ранних этапах токсического воздействия ТХМ.

Цель работы: исследовать изменения биохимических показателей крови у крыс при токсическом поражении печени тетрахлорметаном на ранних сроках корректирующего воздействия оксиметилурацила в сравнении с адеметионином и этилметилгидроксипиридина сукцинатом.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования выполнены на белых аутбредных крысах-самцах с массой 200-220 г. Животные получали сухой сбалансированный комбикорм «Чара» производства фирмы ООО «Мульти-Торг» (Россия) и воду в режиме неограниченного доступа. Крыс в количестве 70 голов методом случайной выборки разделили на группы и содержали в клетках по 7 особей при температуре воздуха $21 \pm 1^\circ\text{C}$. В качестве токсиканта использовали 50% раствор ТХМ, носителем и контрольным веществом (отрицательный контроль) являлось рафинированное оливковое масло.

Корректирующее воздействие проводили оксиметилурацилом (5-гидрокси-6-метилурацил), синтезированным в Институте органической химии Уфимского научного центра РАН [16]. Препаратом сравнения служили лекарственные препараты адеметионин («Гептор», производитель ОАО «Верофарм», Россия) и этилметилгидроксипиридина сукцинат («Мексидол», производитель Фармософт, Россия). Дизайн исследования представлен в таблице 1: 1-ая группа – отрицательный контроль, 2-ая группа – получала только ТХМ (положительный контроль), 3-я группа – ТХМ + ОМУ, 4-я группа – ТХМ+ адеметионин, 5-ая группа – ТХМ+ этилметилгидроксипиридина сукцинат. Эвтаназию подгруппы А проводили через 25 часов, подгруппы Б – через 73 часа.

Условия проведения и вывода животных из эксперимента осуществляли с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным и требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755). Животные выводились из эксперимента путем эвтаназии с помощью углекислого газа с последующей декапитацией.

Для проведения биохимических исследований использовали сыворотку крови лабораторных животных. На фотометре лабораторном медицинском «Stat Fax 3300» (производство США, фирма «Awareness Technology») определяли биохимические показатели, отражающие метаболизм и функциональное состояние печени: активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы, показатели липидного обмена – содержание холестерина и триглицеридов, а также уровень общего белка, мочевой кислоты с использованием клинических тест-наборов и контрольных материалов производства ООО «Вектор-Бест». Для оценки белковосинтетической функции печени определялись альбумины и фракции глобулинов (α_1 , α_2 , β , γ) методом электрофореза сыворотки крови [23].

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows». Расчет включал определение средних величин, стандартной ошибки, вероятность принятия нулевой гипотезы о совпадении распределений сравниваемых выборок определяли с использованием критерия Стьюдента. Различия признавали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты биохимических исследований представлены в таблице 1. Уже через 25 часов после воздействия ТХМ были установлены статистически значимые различия между животными контрольной группы

(отрицательный контроль) и получавших ТХМ (положительный контроль) по среднегрупповым значениям 9 из 14 использованных нами биохимических показателей, а именно активности индикаторных ферментов – АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы, в показателях, отражающих нарушение белкового обмена (общий белок, альбумин, α_1 -глобулин, отношения альбуминов к глобулинам) и общего метаболизма в клетках печени – холестерина, мочевой кислоты.

У крыс, отравленных ТХМ, определялось повышение активности АЛТ в 2,0 раза и АСТ в 52,0% раза по сравнению с животными группы отрицательного контроля ($p < 0,01$), что свидетельствовало о выраженности цитолитического синдрома при воздействии ТХМ, также активности щелочной фосфатазы на 55,2%, характеризующее развитие холеститатического синдрома. Выявлено статистически достоверное понижение содержания холестерина на 61,1% ($p < 0,001$), альбуминов на 14,6% ($p < 0,01$) и коэффициента отношения альбуминов к глобулинам на 24,1%

($p < 0,01$) по сравнению с животными группы отрицательного контроля, что характеризовало нарушение печеночного метаболизма. Установлено повышение уровня мочевой кислоты в 1,4 раза через 24 часа воздействия ТХМ.

При биохимическом исследовании после корректирующего введение ОМУ, адеметионина и этилметилгидроксипиридина сукцината на фоне воздействия ТХМ получены следующие результаты (табл. 2). Введение крысам ОМУ в дозе 50 мг/кг массы тела дважды (через 1 и 24 часа) приводило к восстановлению биохимических показателей практически до уровня контрольной группы: активность АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы снижалась на 37,5; 32,0 и 26,0% ($p < 0,01$), соответственно, по сравнению с положительным контролем (группа 2А). Определялись статистически достоверные понижение по сравнению с положительным контролем уровня мочевой кислоты на 27,3% и повышение некоторых показателей белкового обмена (процентное содержание альбуминов, соотношение альбуминов и гло-

Таблица 1

Дизайн исследования

№ группы	Количество животных	Контрольное вещество, токсикант, подкожно, 2 г/кг	Лечебный препарат, путь введения	Доза препарата, мг/кг	Время введение препарата
1А	7	оливковое масло	-	эквивалентный объем	-
1Б	7	оливковое масло	-	эквивалентный объем	-
2А	7	ТХМ	-	2	-
2Б	7	ТХМ	-	2	-
3А	7	ТХМ	ОМУ, перорально	50	через 1, 24 часа после токсиканта
3Б	7	ТХМ	ОМУ, перорально	50	через 1, 24, 48, 72 часа после токсиканта
4А	7	ТХМ	адеметионин внутривенно	50	через 1, 24 часа после токсиканта
4Б	7	ТХМ	адеметионин внутривенно	50	через 1, 24, 48, 72 часа после токсиканта
5А	7	ТХМ	Этилметилгидроксипиридина сукцинат подкожно	50	через 1, 24 часа после токсиканта
5Б	7	ТХМ	Этилметилгидроксипиридина сукцинат подкожно	50	через 1, 24, 48, 72 часа после токсиканта

булинов). ОМУ уже на ранних сроках купирует гиперферментемию, что указывает на мембрано-стабилизирующий эффект, а также нормализует уровни показателей антиоксидантной системы.

Введение этой же дозы адеметионина и этилметилгидроксипиридина сукцината привело через 25 часов к нормализации активности только одного индикаторного фермента – АЛТ на 47,1 и 35,2 % соответственно, а также уровня холестерина и мочевой кислоты (табл. 2). Следовательно, ОМУ проявляет гептопротекторные свойства на самых ранних этапах острого токсического поражения печени. Сопоставление гептопротекторного действия ОМУ и адеметионина позволяет сделать заключение о том, что ОМУ не уступает препаратам сравнения в способности нормализовать биохимические показатели сыворотки крови крыс, а по показателям ферментативных маркеров имеет преимущество, так как нормали-

зует активность АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы ($p < 0,05$).

Во второй серии экспериментов, в которой этаназию животных проводили через 73 часа, были получены изменения по 11 среднегрупповым значениям биохимических показателей между животными групп отрицательного контроля и после введения ТХМ (табл. 3). Определялось повышение активности АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы на 39,4%, в 2,1 раза и 28%, соответственно, снижение уровня холестерина на 38,8%, повышение уровня мочевой кислоты на 40,0% ($p < 0,01$) у животных после воздействия ТХМ. Зарегистрировано изменение альбумино-глобулиновых соотношений в сыворотке крови животных данной группы: снижение процентного уровня альбуминов и повышение фракции глобулинов (α_1 , α_2 , и β -глобулинов на 38,2%; 29,6% и 17,7 %, соответственно), изменения отношения альбуминов к глобулинам,

Таблица 2

Изменения биохимических показателей у животных при воздействии тетрахлорметана и коррекции гептопротекторами через 25 часов эксперимента

Показатели	Группы животных				
	контроль	ТХМ	ТХМ + ОМУ	ТХМ + гептор	ТХМ + мексидол
	1А	2А	3А	4А	5А
АСТ, Е/л	173,7±4,4	263,0±25,9*	164,5 ±5,4**	222,9 ±15,02	225,5±7,3
АЛТ, Е/л	52,6±2,0	106,1±9,4*	72,2±4,1**	56,1±2,2**	68,8±3,8**
ЛДГ, Е/л	2162,4± ±100,7	2184,6± ±279,6	2155,5± ±145,4	2349,4± ±148,3	2159,0± ±231,5
Щелочная фосфатаза, Е/л	308,8±15,9	480,1±37,9*	358,0±13,5**	355,1±26,2	379,4±10,4
Холестерин, ммоль/л	2,19±0,12	1,34±0,14*	1,27±0,08	1,74±0,14**	1,79±0,15**
Триглицериды, ммоль/л	0,88±0,06	0,73±0,05	0,79±0,13	0,56±0,06**	0,77±0,07
Мочевая кислота, моль/л	123,9±3,3	175,9±20,2*	127,8±4,3**	132,9±4,3**	130,6±8,1**
Общий белок, г/л	70,7±0,75	67,1±1,6*	64,8±1,7	67,1±2,0	66,6±1,2
Альбумины, %	45,2±0,5	38,6±0,7*	41,0±0,67	40,5±1,83	37,8±0,32
α_1 -глобулины, %	14,23±0,82	16,9±0,74*	16,8±0,8	16,17±1,33	17,1±0,65
α_2 -глобулины, %	8,89±0,44	9,0±0,36	10,3±0,6	10,37±0,48**	8,9±0,8
β -глобулины, %	16,8±0,36	18,6±1,04	20,8±0,4	20,17±0,87	20,3±0,1
γ -глобулины, %	14,52±0,58	16,9±1,5	11,05±0,5**	12,8±1,0**	15, 9±0,6
Отношение альбумины/глобулины	0,83±0,05	0,63±0,02*	0,69±0,02**	0,69±0,05	0,61±0,01

Примечание: * - статистически достоверная разница между животными групп 1-А и 2-А; $p < 0,05$; ** - статистически достоверная разница между животными групп 2-А и 3-А, 4-А, 5-А; $p < 0,001$.

что характеризовало нарушение метаболизма в печени и наличие признаков острых воспалительных процессов.

После 4-кратного введения ОМУ в дозе 50 мг/кг к окончанию эксперимента были зарегистрированы статистически достоверные сдвиги в значениях 7 из 11 биохимических показателей: установлено снижение активности АЛТ на 28,4%, повышение уровня холестерина на 9,6% и снижение содержания мочевой кислоты на 30,5% ($p < 0,05$) по сравнению с положительным контролем (группа 2Б). Наблюдалось восстановление активности ЛДГ, содержания общего белка, процентного соотношения альбуминов и α_1 -глобулиной фракции сыворотки крови ($p < 0,05$) практически до уровня таковых у животных группы отрицательного контроля. Лечебное действие адеметионина и этилметилгидроксипиридина сукцината после 4-кратного введения их

на фоне воздействия ТХМ приводило к восстановлению практически до уровня контрольной группы следующих биохимических показателей: активности АЛТ, уровня холестерина, мочевой кислоты сыворотки крови ($p < 0,05$), при этом активность АСТ и щелочной фосфатазы оставались высокими.

Следует отметить, что после 4-кратного лечебного введения ОМУ установлено статистически достоверное улучшение в значениях биохимических показателей, характеризующих различные метаболические процессы печени: белковый, липидный обмен, в уровне индикаторных ферментов и показателях антиоксидантной активности, что свидетельствует о гепатопротекторном действии оксиметилурацила на моделях поражения печени тетрахлорметаном и через 73 часа воздействия. По выраженности гепатопротекторное действие оксиметилурацила сопоставимо с лекарственными

Таблица 3

Изменения биохимических показателей у животных при воздействии тетрахлорметаном и лечении гепатопротекторами через 73 часа эксперимента

Показатели	Группы животных				
	контроль	ТХМ	ТХМ + ОМУ	ТХМ + гептор	ТХМ + мексидол
	1Б	2Б	3Б	4Б	5Б
АСТ, Е/л	173,7±4,4	242,2±17,6*	225,84±14,1	239,5±9,4	236,7±12,6
АЛТ, Е/л	52,6±2,0	109,7±16,1*	78,5±5,0**	72,33±4,5**	74,7±10,0**
ЛДГ, Е/л	2162,4± ±100,7	1594,9± ±34,5*	1893,0± ±50,0**	1349,8± ±75,5	2322,8± ±163,6**
Щелочная фосфатаза, Е/л	308,8±15,9	395,4±35,0*	348,5±36,9	375,6±30,3	384,7±57,2
Холестерин, ммоль/л	2,19±0,12	1,46±0,02*	1,6±0,06**	1,6±0,06**	2,29±0,16**
Триглицериды, ммоль/л	0,88±0,06	0,78±0,07	0,57±0,05	0,69±0,06	0,71±0,07
Мочевая кислота, моль/л	123,9±3,3	173,6±3,3*	120,6±7,5**	135,4±13,2**	161,8±4,9**
Общий белок, г/л	70,7±0,75	70,4±1,7	63,4±2,24**	67,4±2,54	78,8±5,7
Альбумины, %	45,2±0,5	37,0±0,35*	39,5±0,5**	36,09±1,5	39,5±0,24**
α_1 -глобулины, %	14,23±0,82	19,7±0,31*	15,1±0,95**	20,05±0,43	17,6±0,9
α_2 -глобулины, %	8,89±0,44	11,52±0,48*	13,1±0,59	9,65±0,05**	11,8±0,6
β -глобулины, %	16,8±0,36	19,8±0,36*	20,27±0,81	19,1±0,41	19,8±0,5
γ -глобулины, %	14,52±0,58	12,16±0,8*	12,0±1,2	12,21±0,29	11,3±0,5
Отношение альбумины/ глобулины	0,83±0,05	0,59±0,011*	0,66±0,04	0,57±0,03	0,65±0,01**

Примечание: * - статистически достоверная разница между животными групп 1-А и 2-А; $p < 0,05$;

** - статистически достоверная разница между животными групп 2-А и 3-А, 4-А, 5-А; $p < 0,001$.

ми препаратами адеметионином и этилметилгидроксипиридина сукцинатом.

Заключение. Анализ изложенных результатов показывает, что поступление ТХМ даже на самых ранних этапах сопровождалось изменением активности индикаторных ферментов АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы, свидетельствующих о мембраноповреждающих эффектах гепатотоксиканта. Одновременно выявлялся дисбаланс белкового обмена в гепатоцитах, снижение уровня антиоксидантов, характеризующее нарушение печеночного метаболизма.

Как было указано выше в многочисленных исследованиях Мышкина В.А. установлено, что препараты пиримидинового ряда обладают мембраностабилизирующими и антиоксидантными свойствами, имеют выраженный гепатопротективный эффект, показанный на моделях поражения печени токсикантами на крысах зрелого возраста при длительных сроках интоксикации [5,6,12,13,14,15,17].

Проведенные нами исследования подтверждают, что оксиметилурацил проявляет гепатопротекторные свойства даже на самых ранних этапах острого токсического поражения печени ТХМ. Введение крысам ОМУ в дозе 50 мг/кг массы тела дважды (через 1 и 24 часа) приводило к восстановлению активности АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы, уровня мочевой кислоты и некоторых показателей белкового обмена (процентное содержание альбуминов, соотношение альбуминов и глобулинов).

Корректирующее действие 4-кратного введения ОМУ привело к более выраженным резуль-

татам, а именно были зарегистрированы статистически достоверные сдвиги в нормализации значений 7 из 11 биохимических показателей: активности АЛТ, ЛДГ, уровня холестерина, мочевой кислоты, общего белка, процентного отношения альбуминов и α_1 -глобулиновой фракции сыворотки крови.

Таким образом, ОМУ стабилизируют мембраны клеток, так как снижает уровень гиперферментемии, а также нормализует уровни показателей антиоксидантной системы, тем самым, восстанавливает оксидантно-антиоксидантное равновесие в гепатоцитах. ОМУ способствуют восстановлению белоксинтезирующей функции печени. Важно констатировать, что отличительной особенностью наших исследований является подтверждение гепатопротекторных свойств ОМУ на самых ранних этапах воздействия токсиканта. При этом, установлено что ОМУ не уступает адеметионину и этилметилгидроксипиридина сукцинату в способности нормализовать биохимические показатели сыворотки крови крыс, а по показателям ферментативных маркеров имеет преимущество, так как нормализует активность АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы по истечению 25 часов корректирующего влияния ($p < 0,05$).

Полученные результаты имеют большое значение в плане перспективного использования ОМУ для купирования гепатотоксических эффектов при острых воздействиях химических веществ в условиях экологических и промышленных отравлений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Буеверов А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени. Гастроэнтерология, гепатология, колопроктология. 2002; 4: 21-25.
2. Голиков С. Н., Саночкин Н. В., Тиунов Л. А. Общие механизмы токсического действия. М.: Медицина; 1986; 279.
3. Воронина Т.А., Смирнов Л.Д., Дюмаев К.М. и др. Актуальные направления применения мексидола. Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека: в кн.: Сборник трудов национальной научно-практической конференции. Смоленск, 2001: 191-192.
4. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. Киев: Здоровья, 1989.
5. Мышкин В.А., Бакиров А.Б. Оксидативный стресс и повреждение печени при химических воздействиях. Уфа: «ФБУН Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 2010.
6. Бакиров А.Б., Мышкин В.А., Репина Э.Ф. Патогенез и экспериментальная фармакокоррекция токсических и деструктивных проявлений оксидативного стресса Уфа: «ФБУН Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека». 2015; 173.
7. Голиков С. Н., Саночкин Н. В., Тиунов Л. А. Общие механизмы токсического действия. М.: Медицина; 1986.
8. Блюгер А.Ф., Майоре Л.А., Горштейн Э.С. Характеристика целостности мембран печени при некоторых видах поражения органа. В кн.: Успехи гепатологии.- вып.9. Рига; 1981: 5-24.
9. Cichoż-Lach H., Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. World journal of gastroenterology: WJG. 2014; 20(25): 8082.
10. Singal A.K., Jampana S.C., Weinman S.A. Antioxidants as therapeutic agents for liver disease. Liver International. 2011; 31(10): 1432-1448.
11. Karaa A, Thompson KJ, McKillop IH, Clemens MG, Schrum LW. S-adenosyl-L-methionine attenuates oxidative stress and hepatic stellate cell activation in an ethanol-LPS-induced fibrotic rat model. Shock. 2008; 30(2):197-205.
12. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф., Каримов Д.О. Экспериментальная фармакокоррекция токсических поражений печени антиоксидантами. Уфа: ООО «Принт-2»; 2016.
13. Zhang F, Gu JX, Zou XP, Zhuge YZ. Protective effects of S-adenosylmethionine against CCl4 - and ethanol-induced experimental hepatic fibrosis. Mol Biol. 2016;50(2):246-51.
14. Gong Z, Yan S, Zhang P, Huang Y, Wang L. Effects of S-adenosylmethionine on liver methionine metabolism and steatosis with ethanol-induced liver injury in rats. Hepatol Int. 2008;2(3):346-52.
15. Бежин А.И., Перьков А.А. Антиоксидантная терапия при коррекции ишемического поражения печени (экспериментальное исследование). В кн.: Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2010; 1:8-18.
16. Мышкин В. А., Бакиров А. Б. Оксиметилурацил. Уфа: ДАР; 2001.
17. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф. Коррекция перекисного окисления липидов при повреждающих воздействиях (гипатотропные яды, гипоксия, стресс)- Уфа: Мир печати, 2012.
18. Мышкин В.А., Еникеев Д.А. Преодоление гепатотоксичности антиоксидантами: реальность и перспектива. Уфа: Полиграфдизайн; 2014; 182.
19. Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Срубалин Д.А., Гимадиева А.Р. Экспериментальная оценка производных пиримидина на моделях токсического поражения печени: обзор. Научное обозрение. Медицинские науки. 2016; 03: 88-98.
20. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф., Гимадиева А.Р. Гепатопротекция с применением оксиметилурацила: Информационно-методическое письмо. Уфа; 2013; 11.
21. Репина Э.Ф., Гимадиева А.Р., Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Тимашева Г.В., Хуснудинова Н.Ю. и др. Антигипоксическая активность нового комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия. Токсикологический вестник. 2017; 2:40-42.
22. Репина Э.Ф., Мышкин В.А., Каримов Д.О., Тимашева Г.В., Хуснудинова Н.Ю., Смолянкин Д.А. и др. Антигипоксическая активность комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой. Токсикологический вестник. 2018; 4: 20-23.
23. Камышиников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: Медпресс-информ; 2009.

REFERENCES:

1. Buyeverov A. O. Oxidative stress and its role in liver damage. *Gastroenterologiya, gepatologiya, koloproktologiya*. 2002; 4: 21-25 (in Russian)
2. Golikov S. N., Sanockij N. V., Tiunov L. A. General mechanisms of toxic action. M.: Medicine; 1986; 2-79 (in Russian)
3. Voronina T.A., Smirnov L.D., Dyumaev K.M. i dr. Current areas of application of Mexidol. Free radicals, antioxidants and human diseases: in: Proceedings of the national scientific and practical conference. Smolensk, 2001: 191-192 (in Russian)
4. Gubskij Yu.I. Correction of chemical liver damage. Kiev: Health, 19-89 (in Russian)
5. Myshkin V.A., Bakirov A.B. Oxidative stress and liver damage under chemical influences. Ufa: "FBUN Ufa research Institute of labor medicine and human ecology", 2010 (in Russian)
6. Bakirov A. B., Myshkin V. A., Repina E. F. Pathogenesis and experimental correction of oxidative and destructive manifestations of oxidative stress. Ufa: "FBUN Ufa research Institute of labor medicine and human ecology", 2015; 173 (in Russian)
7. Golikov S. N., Sanockij N. V., Tiunov L. A. General mechanisms of toxic action. M.: Medicine; 1986 (in Russian)
8. Blyuger A.F., Majore L.A., Gorshtejn E.S. Characterization of the integrity of the membranes of the liver for some types of the affected organ. In: *Advances in Hepatology*. vol.Riga; 1981: 5-24 (in Russian)
9. Cichoż-Lach h, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2014; 20(25): 80-82
10. Singal A. K., Jampana, S. C., Weinman S. A. Antioxidants as therapeutic agents for liver disease. *Liver International*. 2011; 31(10): 1432-1448.
11. Karaa A, Thompson KJ, McKillop IH, Clemens MG, Schrum LW. S-adenosyl-L-methionine attenuates oxidative stress and hepatic stellate cell activation in an ethanol-LPS-induced fibrotic rat model. *Shock*. 2008; 30(2):197-205.
12. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina E.F., Karimov D.O. Experimental pharmacocorrection of toxic liver lesions with antioxidants. Ufa: LLC "Print-2"; 2016 (in Russian)
13. Zhang F, Gu JX, Zou XP, Zhuge YZ. Protective effects of S-adenosylmethionine against CCl₄ – and ethanol-induced experimental hepatic fibrosis. *Mol Biol*. 2016;50(2):246-51.
14. Gong Z, Yan S, Zhang P, Huang Y, Wang L. Effects of S-adenosylmethionine on liver methionine metabolism and steatosis with ethanol-induced liver injury in rats. *Hepatol Int*. 2008;2(3):346-52
15. Bezhin A.I., Per'kov A.A. Antioxidant therapy at the correction of ischemic defect of liver (experimental research). In: *The Kursk research and practice announce r " is Man and his health"*. 2010; 1: 8-18.
16. Myshkin V. A., Bakirov A. B. Oxymethyluracil. Ufa: GIFT; 2001 (in Russian)
17. Myshkin V. A., Bakirov A. B., Repina E. F. Correction of peroxide oxidation of Li-pidou with damaging effects (gematotropnye poisons, hypoxia, stress)– Ufa: the World press, 2012 (in Russian)
18. Myshkin V.A., Enikeev D.A. Overcoming hepatotoxicity antioxidants: reality and perspective. Ufa: Poligrafizajjn; 2014; 182 (in Russian)
19. Myshkin V. A., Enikeev D. A., Trubilin D. A., Gimadieva A. R. Experimental evaluation of pyrimidine derivatives on models of liver toxicity: a review. *Nauchnoe obozrenie. Medicinskie nauki*. 2016; 03: 88-98 (in Russian)
20. Myshkin V. A., Bakirov A. B., Repina E. F., Gamadia A. R. Hepatoprotective using oxymethyluracil: Informational-methodical letter Ufa; 2013; 11 (in Russian)
21. Repina E.F., Gimadieva A.R., Myshkin V.A., Bakirov A.B., Timasheva G.V., Husnutdinova N.YU. i dr. Antihypoxic activity of a new complex compound of oxymethyluracil with sodium succinate. *Toksikologicheskij vestnik*. 2017; 2:40-40 (in Russian)
22. Repina E.F., Myshkin V.A., Karimov D.O., Timasheva G.V., Husnutdinova N.YU., Smolyankin D.A. i dr. Antihypoxic activity of the complex compound of oxymethyluracil with ascorbic acid. *Toksikologicheskij vestnik*. 2018; 4: 20-23 (in Russian)
23. Kamyschnikov V.S. Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnostics. M.: Medpress-infom; 2009. (in Russian)

G.V. Timasheva, E.F. Repina, D.O. Karimov, N.Yu. Khusnutdinova, G.F. Mukhammadieva, A.B. Bakirov, D.A. Smolyankin, S. S. Baigildin

PECULIARITIES OF METABOLIC CHANGES IN EXPERIMENTAL ANIMALS AT EARLY TERMS OF PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF TOXIC LIVER DISEASES

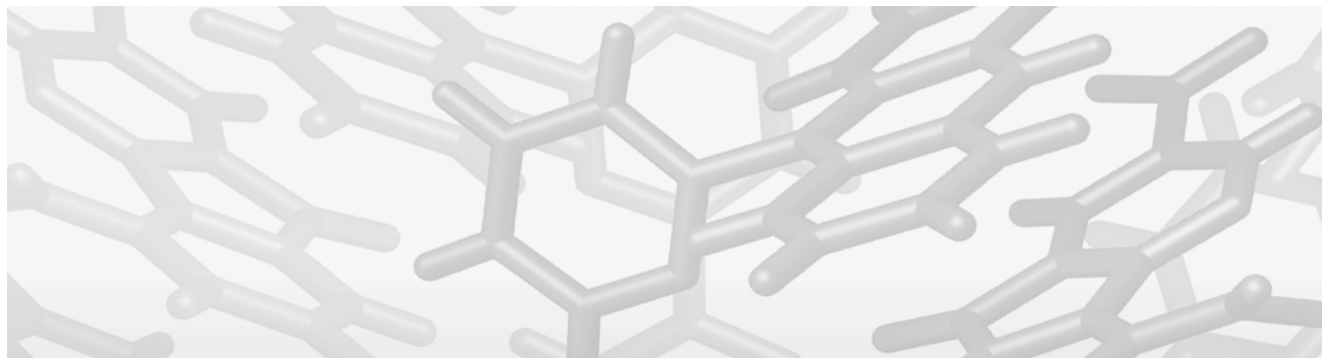
Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Ufa, Russian Federation.

The paper presents the results of studies on metabolic changes in experimental animals with acute tetrachloromethane poisoning and further damage correction using substances possessing hepatoprotective properties: oxymethyluracil, ademethionine and ethylmethylhydroxypyridine succinate. It has been revealed that oxymethyluracil exhibits heteroprotective properties at the earliest stages of acute toxic liver damage with chemical toxicants: it has membrane-stabilizing properties, normalizes the levels of antioxidant system parameters, thereby restoring the oxidative-antioxidant balance in hepatocytes. Oxymethyluracil has more pronounced hepatoprotective properties at the early stages of treatment in comparison with ademethionine and ethylmethylhydroxypyridine succinate. The results obtained are important in terms of the prospective use of oxymethyluracil for the relief of hepatotoxic effects in acute exposure to hepatropic chemicals under environmental and industrial poisoning.

Keywords: acute toxic liver damage, tetrachloromethane, liver, oxymethyluracil, hepatoprotectors, metabolic changes.

Quote: G.V. Timasheva, E.F. Repina, D.O. Karimov, N.Yu. Khusnutdinova, G.F. Mukhammadieva, A.B. Bakirov, D.A. Smolyankin, S.S. Baigil'din. Peculiarities of metabolic changes in experimental animals at early terms of pharmacological correction of toxic liver diseases. *Toxicological Review*. 2020; 1: 13-19.

Переработанный материал поступил в редакцию 21.01.2020 г.



БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И МОРФОГЕНЕЗ ОСТРОГО ПОЧЕЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КРЫС ДИХЛОРЕТАНОМ

К.В. Сивак¹, Т.Н. Саватеева-Любимова¹,
Т.А. Гуськова², Г.Н. Кульбицкий³,
М.Л. Александрова³

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

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России), 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

В статье представлены результаты экспериментального исследования при отравлении крыс 1,2-дихлорэтаном (250 мкл/кг, в/ж). Целью данной работы являлось изучение взаимосвязи ряда биологических маркеров и морфологических изменений при остром повреждении почек крыс дихлорэтаном. Исследование проб мочи опытных животных методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) выявило 1,2-дихлорэтан в диапазоне концентраций 0,05-0,90 мкг/мл (95% С.И. = 0,09-0,90 мкг/мл). Суточное выделение с мочой составило 0,60-4,50 мкг/16ч (95% С.И. = 1,14-3,93 мкг). Уровни нефрон-специфичных биомаркеров в моче составили 194,62±9,02 МЕ/л (NAGase, $p=0,0022$) и 2,93±0,38 нг/мл (KIM-1, $p=0,0022$), что превосходило таковые в группе контроля в 5 и 23 раза, соответственно. В почках развивались: отек, расстройства внутрпочечной гемодинамики, миграция лейкоцитов в интерстиций, неравномерное поражение различных зон почек за счет жировой дистрофии и некробиотических изменений нефротелия проксимальных канальцев в основном в корковом слое почек. Выявлено наличие положительных корреляций между уровнем 1,2-дихлорэтана в моче и уровнем KIM-1 (Spearman $r = 0,7427$, 95% С.И. 0,2764-0,9260, $p=0,0083$), β -N-ацетилглюкозаминидазы (Spearman $r = 0,8248$, 95% С.И. 0,4613-0,9512, $p=0,0019$), суммы баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,8064$, 95% С.И. 0,7126-0,8719, $p<0,0001$); уровнем KIM-1 и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,7427$, 95% С.И. 0,2764-0,9260, $p=0,0083$), β -N-ацетилглюкозаминидазы и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,4684$, 95% С.И. 0,2764-0,6244, $p<0,0001$), уровнем ВНиСММ в крови и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,6909$, 95% С.И. 0,5549-0,7909, $p<0,0001$).

Ключевые слова: 1,2-дихлорэтан, крысы, острое повреждение почек, ГЖХ, клиренс креатинина, KIM-1, NAGase, ВНиСММ.

Цит.: К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Т.А. Гуськова, Г.Н. Кульбицкий, М.Л. Александрова. Биологические маркеры и морфогенез острого почечного повреждения при отравлении крыс дихлорэтаном. Токсикологический вестник. 2020; 1: 20-26.

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

Кульбицкий Глеб Никандрович (Kul'bitzkiy Gleb Nikandrovich), кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН ИТ ФМБА России, Lab.htd@toxicology.ru

Александрова Марина Леонидовна (Alexandrova Marina Leonidovna), кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН ИТ ФМБА России, Lab.htd@toxicology.ru

Введение. Органические растворители, в частности хлорорганические (дихлорэтан, тетрахлорметан, трихлорэтилен, хлороформ и др.), широко применяются в промышленности и часто являются причиной острых случайных (на производстве) и преднамеренных (токсикомании, в качестве суррогата алкоголя, суицид) отравлений [1, 2]. Ввиду особенностей токсикокинетики хлорорганические растворители имеют большой кажущийся объем распределения за счет депонирования в жировой ткани, головном мозге и паренхиматозных органах, а также подвергаются так называемому «летальному синтезу», т.е. продукты биотрансформации хлорорганических растворителей оказывают более выраженное токсическое действие на ткани и клетки организма, чем нативные молекулы токсиканта. Токсификация 1,2-дихлорэтана (ДХЭ) проходит в гепатоцитах при окислении изоферментом CYP2E1 цитохрома P450 с образованием 1,2-дихлорэтан-1-ола, затем неэнзиматическом превращении в крайне нестабильный хлоргидрин и, далее, в хлорацетальдегид, который ковалентно связываясь с макромолекулами, превращается в аддукт с глутатионом под влиянием глутатион-S-трансферазы. Из хлоруксусного альдегида под действием альдегиддегидрогеназы образуется монохлоруксусная кислота, а под действием алкогольдегидрогеназы – 2-гидроксиэтил-S-глутатион [3]. Наибольшей чувствительностью к повреждающему действию дихлорэтана, наряду с центральной нервной и сердечно-сосудистой системой, обладают почки и печень. В основе механизма токсичности дихлорэтана лежит каскад свободно-радикальных реакций, активирующих липопероксидацию, повреждение мембран клеток и снижение пула эндогенного восстановленного глутатиона [4], приводящие к дистрофическим изменениям и гибели нефротелиоцитов почечных канальцев [5]. Следует отметить, что в соответствии с современными диагностическими критериями острого повреждения почек, особенности токсического действия 1,2-дихлорэтана на почки являются недостаточно изученными.

Целью данного исследования являлось изучение взаимосвязи ряда биологических маркеров и морфологических изменений при остром повреждении почек крыс дихлорэтаном. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи: смоделировать острое отравление 1,2-дихлорэтаном на лабораторных животных; провести забор биоматериала с целью сравнительной оценки уровня биологических маркеров в моче и крови и степени морфологических изменений в ткани почек крыс; провести анализ уровня дихлорэтана в моче.

Материалы и методы исследования. Эксперимент *in vivo* выполнен на самцах крыс Wistar с массой тела 200-220 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) [6]. Крысы были разделены на 2 группы: 1 группа – интактные животные с №1-6 (n=6); 2 группа – животные, получавшие ДХЭ в дозе $0,5 \times LD_{50}$ – 250 мкл/кг однократно в/ж с №7-12 (n=6). Для сбора мочи животных на 3 сутки помещали в обменные клетки Techniplast Gazzada (Италия). Оценивали количество выделенной мочи за 16 часов, её плотность (рефрактометрически, г/мл), уровень белка (методом связывания пирогаллолового красного, мг/дл), лейкоцитов (микроскопически, кл/мкл), биомаркеров β -N-ацетилглюкозаминидазы (NAGase, спектрофотометрически с помощью набора фирмы Sigma Aldrich, ME/л), молекулы повреждения почек KIM-1 (ИФА, нг/мл), проводили расчёт клиренса креатинина (ClCre, мл/мин). Концентрацию ДХЭ в моче определяли по внешней калибровке методом ГЖХ с детектором электронного захвата (ГЖХ-ДЭЗ) прямым парофазным методом на приборе «Хроматэк-Кристалл 5000.2» [2, 7]. Для этого аликвоту 2,00 мл мочи животных, отравленных ДХЭ, помещали в герметичный контейнер и нагревали до +60°C, после чего отбирали паровую фазу пробы и вводили микрошприцем в инжектор газового хроматографа. Среднеквадратическое отклонение по ДЭЗ составляло менее 4%. С целью проведения биохимических исследований у этих же животных отбирали образцы крови из хвостовой вены. В крови определяли уровень веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ, у.е.), как площадь под кривой абсорбции депротенината плазмы после осаждения белков 30% трихлоруксусной кислотой в диапазоне длин волн 238-306 нм по методу Малаховой М.Я. [8] на спектрофотометрической системе ЕРОСН2 фирмы BioTek Instruments Inc. (США), креатинин (мкмоль/л) в крови и моче определяли энзиматическим РАР-методом с помощью набора Креатинин-ПАП-Ново фирмы Вектор-Бест (Россия) на автоматическом биохимическом анализаторе Keylab (ВРС BioSed srl, Италия). Животных выводили из эксперимента путем плановой эвтаназии, которую проводили на 4-е сутки путем одномоментной декапитации под легким наркозом (применялся ксилазин и золетил) и проводили вскрытие с макроскопическим

и гистологическим исследованием почек (эвисцерация, взвешивание, вырезка, кассетирование, маркировка, фиксация, проводка, заливка в парафиновые блоки, изготовление 5 мкм срезов, окраска гематоксилин-эозином, заключение под покровное стекло и микроскопия) согласно общепринятым протоколам [9]. Криостатные 20 мкм срезы формалин-фиксированных почек окрашивали 0,2% раствором масляного красного О в пропиленгликоле в течение 15 минут, затем заключали под покровное стекло глицерин-желатином. Микрофотографии получали с использованием микроскопа Leica DM1000 (Германия) и камеры TourTek (КНР). Сумму баллов патологических изменений в ткани почек оценивали по интегральной шкале EGTI-score (анализ E – состояния эндотелия, G – клубочков, T – канальцев и I – интерстициальной ткани, от 0 до 4 балла) по методике Khalid U. et al., 2016 [10]. 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.). Отличия между выборками оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни для парных сравнений и считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. На фоне острого отравления крыс ДХЭ было выявлено двукратное снижение клиренса эндогенного креатинина (в 2 раза, $p=0,0043$) и тенденция к снижению плотности мочи ($p=0,0519$) по сравнению

с группой контроля. Исследование проб мочи отравленных крыс (№7-12) выявило наличие ДХЭ в диапазоне концентраций 0,05-0,90 мкг/мл (95% C.I. = 0,09-0,90 мкг/мл). Суточное выделение с мочой составило 0,60-4,50 мкг/16ч (95% C.I. = 1,14-3,93 мкг). Данные представлены на рисунке 1. В крови отравленных крыс резко увеличивался пул веществ низкой и средней молекулярной массы из-за токсического поражения почек (в 3 раза, $p=0,0022$). В моче отмечали следы кетоновых веществ, увеличение уровня белка (в 11 раз, $p=0,0022$) и лейкоцитов (в 7 раз, $p=0,0043$), что свидетельствовало о развитии интоксикации и острого повреждения почек. Анализ уровня нефрон-специфических маркеров токсического повреждения проксимальных канальцев – активности β -N-ацетилглюкозаминидазы и молекулы повреждения почек KIM-1 в моче – показал, что величины их показателей составили $194,62 \pm 9,02$ МЕ/л (NAGase, $p=0,0022$) и $2,93 \pm 0,38$ нг/мл (KIM-1, $p=0,0022$), что превосходило таковой уровень в группе контроля в 5 и 23 раза, соответственно. Данные представлены на рисунке 2.

Вскрытие отравленных ДХЭ животных после плановой эвтаназии продемонстрировало увеличение почек в размерах (массовый коэффициент превосходил таковое значение у контрольных особей в 1,3 раза, $p=0,0022$), окрас органа был бледно-коричневого цвета, капсула снималась легко. На продольном разрезе обеих почек был отмечен отек коркового слоя, который был обширным и выбухал над поверхностью разреза, рисунок коры был нечетким, имело место полнокровие юкста-



Б

№ крысы	Содержание ДХЭ, мкг/мл	V мочи, мл	Клиренс, мкг/16час
1	0	4,5	0
2	0	4	0
3	0	3,8	0
4	0	4	0
5	0	3,5	0
6	0	2,8	0
7	0,4	7	2,8
8	0,15	11	1,65
9	0,05	12	0,6
10	1	4,5	4,5
11	0,5	5	2,5
12	0,9	3,5	3,15

Рис. 1. Содержание 1,2-дихлорэтана в моче крыс с острым повреждением почек токсического генеза на 3 сутки после отравления (№7-12). А: типовая ГЖХ-хроматограмма. Б: концентрация ДХЭ в моче крыс и его количество, выделенное за 16 часов.

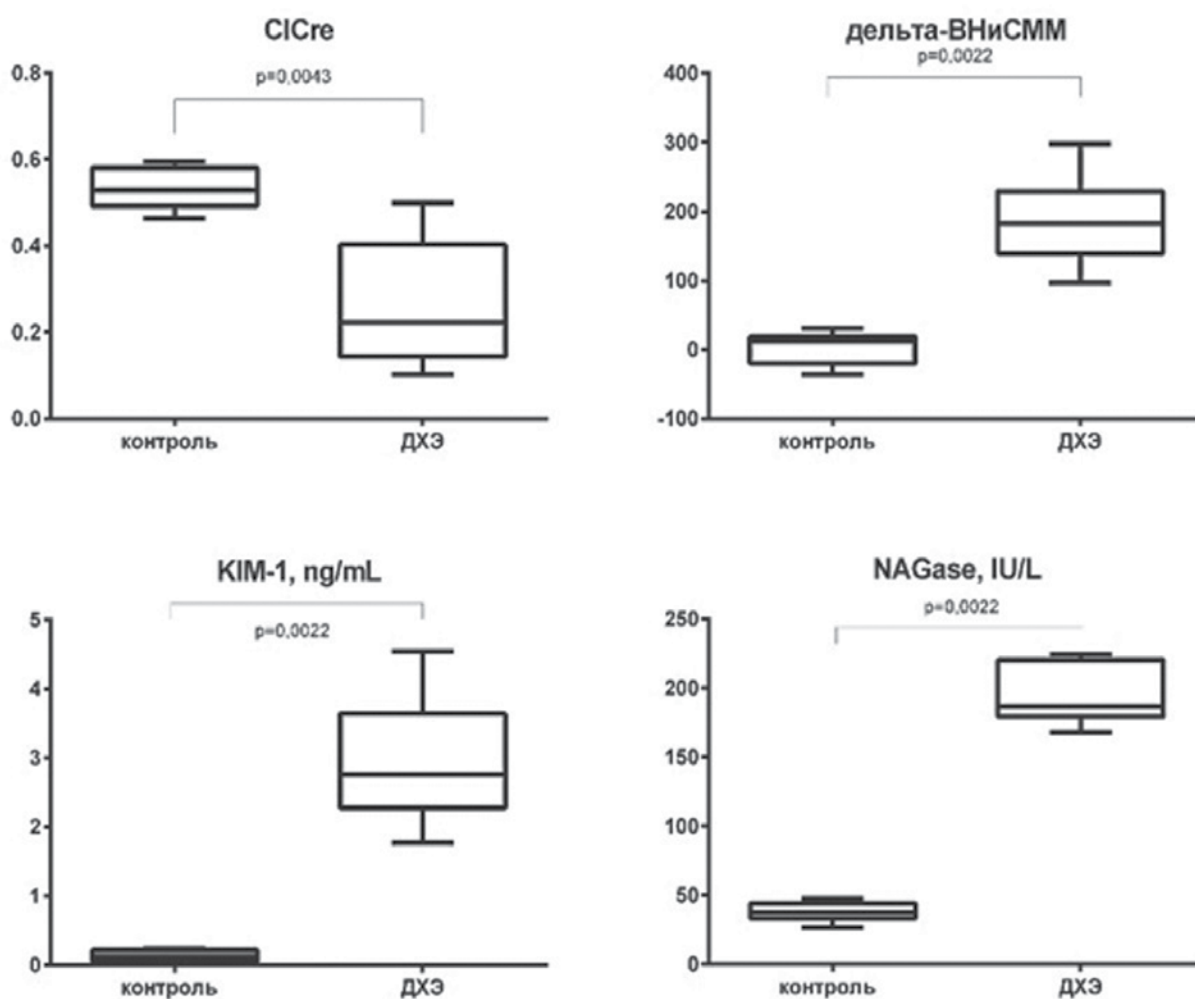


Рис. 2. Величины клиренса эндогенного креатинина (ClCr, мл/мин), веществ низкой и средней молекулярной массы в крови (дельта-VNiSMM, %), молекулы повреждения почек (KIM-1) и активности β -N-ацетилглюкозаминидазы (NAGase) в моче крыс с острым повреждением почек токсического генеза на 3 сутки после отравления 1,2-дихлорэтаном. По оси абсцисс – экспериментальные группы (контроль и отравленные ДХЭ крысы).

медуллярной зоны. Гистологическое исследование препаратов почек отравленных крыс показало наличие неравномерного поражения различных зон органа. Так, в корковом слое почек преобладали дистрофические и некробиотические изменения нефротелия проксимальных канальцев, захватывающие до 60% площади коркового слоя среза почки с признаками венозной гиперемии и капиллярного стаза; в ряде клубочков отмечали полнокровные капилляры петель. В переходной S-зоне почки острые расстройства гемодинамики в виде расширения перитубулярных и внутригломерулярных капилляров сочетались с дистрофическими и некробиотическими изменениями нефротелия проксимальных канальцев, занимавшими до 25% площади. Как

в корковом слое, так и в переходной зоне наружной медуллы наблюдали локальные очаги лимфогистиоцитарной инфильтрации за счет миграции клеток из сосудистого русла. Гистохимическая реакция на жир с масляным красным O выявила крупные ($p=0,0065$) и мелкие ($p=0,0022$) капли жировых включений в цитоплазме значительной части нефротелиоцитов в проксимальных канальцах коркового слоя почки по сравнению с таковыми в группе контроля. Совокупность баллов по шкале оценки патологических изменений почек EGPI-score, включающей в анализ состояние эндотелия сосудов, клубочков, канальцев и интерстициальной ткани, у отравленных ДХЭ животных составила $5,00 \pm 1,57$ балла ($p=0,0022$), превосходя в 10 раз фоновые возрастные, половые

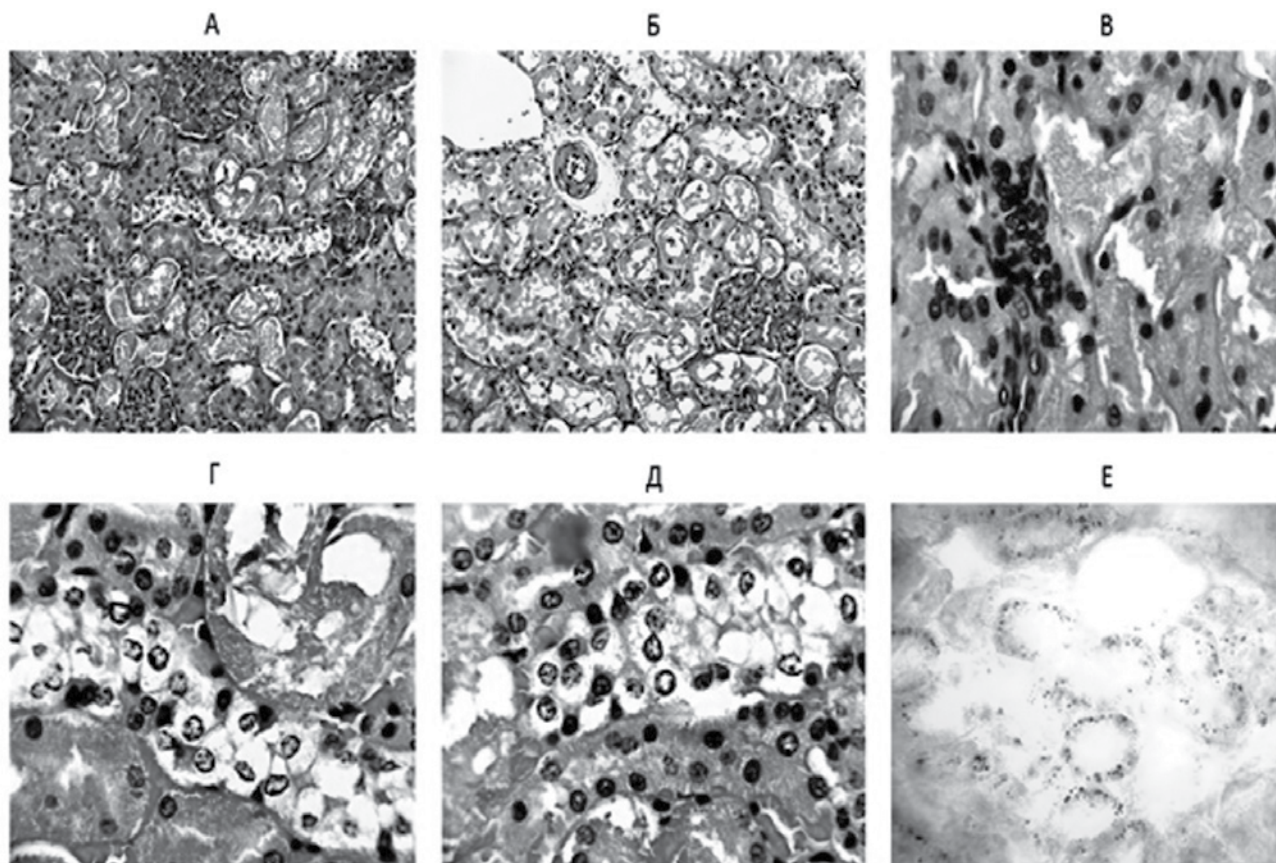


Рис. 3. Патоморфологические изменения в ткани почек крыс с острым повреждением почек токсического генеза на 4 сутки после отравления 1,2-дихлорэтаном. Окраска гематоксилин-эозином. А: ув. 200х, острые расстройства гемодинамики в виде расширения перитубулярных и внутригломерулярных капилляров, дистрофические и некробиотические изменения нефротелия проксимальных канальцев, занимающие до 25% площади переходной S-зоны коркового слоя почек. Б: ув. 200х, распространенные некробиотические изменения нефротелия проксимальных канальцев, занимающие до 60% площади коркового слоя почек, периваскулярный отек. В: ув. 400х, лимфогистиоцитарный инфильтрат в интерстициальной ткани коркового слоя почек. Г и Д: ув. 400х, выраженная дистрофия эпителия проксимального канальца. Е: ув. 200х, положительная гистохимическая реакция на жир в нефротелии проксимальных канальцев коркового слоя почек при окраске масляным красным О (красные капли в цитоплазме клеток).

и внутривидовые изменения в контрольной группе крыс. Полученные данные представлены на рисунках 3 и 4.

Анализ корреляций Спирмена показал наличие прямых положительных корреляций между уровнем ДХЭ в моче и содержанием биомаркера нефротоксичности молекулы повреждения почек КИМ-1 (Spearman $r = 0,7427$, 95% С.И. 0,2764-0,9260, $p=0,0083$), а также активностью β -N-ацетилглюкозаминидазы (Spearman $r = 0,8248$, 95% С.И. 0,4613-0,9512, $p=0,0019$) и величиной суммы баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,8064$, 95% С.И. 0,7126-0,8719, $p<0,0001$). Аналогичные данные были получены при анализе между уровнем биомаркера нефротоксичности молекулы повреждения почек КИМ-1 и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,7427$, 95% С.И. 0,2764-0,9260, $p=0,0083$), активностью β -N-ацетилглюкозаминидазы и суммой баллов по

шкале EGTI (Spearman $r = 0,4684$, 95% С.И. 0,2764-0,6244, $p<0,0001$), уровнем веществ низкой и средней молекулярной массы ВНиСММ в крови и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,6909$, 95% С.И. 0,5549-0,7909, $p<0,0001$). Отрицательные корреляции отмечали между уровнем клиренса эндогенного креатинина и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = -0,7909$, 95% С.И. -0,9410-0,3807, $p=0,0017$), уровнем ДХЭ и клиренсом эндогенного креатинина (Spearman $r = -0,6805$, 95% С.И. -0,9057-0,1559, $p=0,0080$); уровнем ВНиСММ и клиренсом эндогенного креатинина (Spearman $r = -0,7636$, 95% С.И. -0,9325-0,3203, $p=0,0050$).

Заключение. При отравлении 1,2-дихлорэтаном у крыс развивается острое повреждение почек, которое характеризуется признаками мочевого синдрома (протеинурией, лейкоцитурией), снижением клиренса эндо-

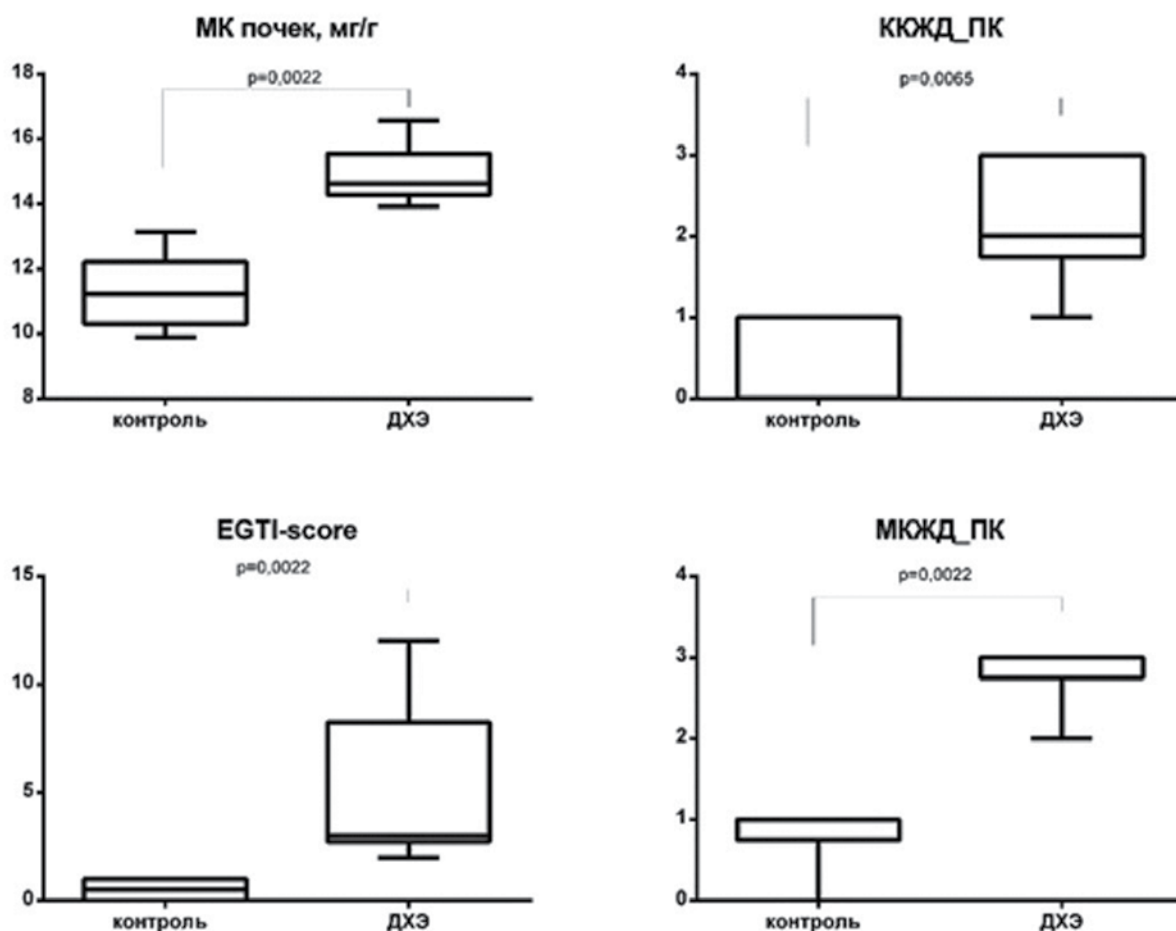


Рис. 4. Количественная характеристика патоморфологических изменений в ткани почек крыс с острым повреждением почек токсического генеза на 4 сутки после отравления 1,2-дихлорэтаном. Величины массового коэффициента почек (МК почек, мг/г), суммарный индекс патологических изменений по шкале EGTI-score, количество клеток нефротелия проксимальных канальцев почек, содержащих крупные капли (ККЖД_ПК) и мелкие капли (МКЖД_ПК) жира при окраске масляным красным O. По оси абсцисс – экспериментальные группы (контроль и отравленные ДХЭ крысы).

генного креатинина, повышением уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в крови. Маркер нефротоксичности – молекула повреждения почек КИМ-1 увеличивалась в моче в 23 раза, а активность лизосомального фермента β -N-ацетилглюкозаминидазы – в 5 раз по сравнению с контрольной группой крыс. Величина уровня биомаркеров нефротоксичности в моче крыс положительно кор-

релировала с уровнем как самого токсиканта, так и степенью патологических и гистопатологических изменений в нефротелии проксимальных канальцев. Выявленные изменения в уровне биомаркеров, а также корреляционные взаимосвязи со степенью патоморфологических изменений расширяют современные представления о нефротоксичности данного хлорорганического растворителя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каштанова И.С., Лось Д.П., Федотова И.Н. Острое отравление дихлорэтаном (клинические наблюдения) // Трудный пациент №6, Т.12, 2014. С. 48-52
2. Бушуев Е.С., Башарин В.А., Горбачёва Т.В., Фокин М.Б. Летучие органические соединения: химико-токсикологический анализ. – СПб.: ООО «Издательство «Левша. Санкт-Петербург», 2018. – 240 с.
3. Mehendale H.M. Halogenated Hydrocarbons // Compr. Toxicol. 2010. С. 459–474.
4. Бонитенко Ю.Ю., Бонитенко Е.Ю.

Этанол и токсичность 1,2-дихлорэтана // Medline. – 2003. – Т.4. – С. 451-460

5. Ермоленко В.М., Николаев А.Ю. Острая почечная недостаточность: руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 240 с.
6. Директива 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Rus-LASA. СПб. 2012; 48 с.
7. Савчук С.А., Веденин А.Н. Обнаружение и количественное

определение летучих токсических веществ и гликолей в биологических объектах методом газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Методические рекомендации / Под ред. Б.Н. Изотова, 2003; 30 с.

8. Медицинские лабораторные технологии. Том 2. / Под ред. проф. А.И. Карпищенко. – СПб: Интермедина, 2002. – 600 с.
9. Стандартные технологические процедуры при проведении патолого-анатомических исследований:

клинические рекомендации RPS1.1(2016) / П.Г. Мальков, Г.А. Франк, М.А. Пальцев; Российское общество патологоанатомов. – М.: Практическая медицина, 2017. – 136 с.

10. Khalid U., Pino-Chavez G., Nesargikar P., Jenkins R.H., Bowen T., Fraser D.J. and Chavez R. Kidney ischaemia reperfusion injury in the rat: the EGTI scoring system as a valid and reliable tool for histological assessment. J Histol Histopathol. 2016; 3:1. <http://dx.doi.org/10.7243/2055-091X-3-1>

REFERENCES:

1. *Kashanova I.S., Elk D.P., Fedotova I.N.* Acute poisoning with dichloroethane (clinical observations) // *Trudnyy patsiyent* №6, T.12, 2014. P. 48-52 (in Russian)
2. *Bushuyev Ye.S., Basharin V.A., Gorbachova T.V., Fokin M.B.* Volatile organic compounds: chemical-toxicological analysis. – SPb.: OOO «Izdatel'stvo «Levsha. Sankt-Peterburg», 2018. – 240 P. (in Russian)
3. *Mehendale H.M.* Halogenated Hydrocarbons // *Compr. Toxicol.* 2010. C. 459–474.
4. *Bonitenko, Yu.Yu., Bonitenko, E.Yu.* Ethanol and toxicity of 1,2-dichloroethane // *Medline.* – 2003. – T.4. – P. 451-460 (in Russian)
5. *Yermolenko V.M., Nikolaev A.D.* Acute renal failure. – Moscow: GEOTAR-Media, 2010. – 240 P. (in Russian)
6. 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 P. (in Russian)
7. *Savchuk S.A., Vedenin A.N.* Detection and quantitative determination of volatile toxic substances and glycols in biological objects by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. Methodical recommendations / Ed. B.N. Izotov, 2003; 30 p. (in Russian)
8. *Medical laboratory technology. Volume 2.* / Ed. prof. A.I. Karpischenko. – SPb: Intermedika, 2002. – 600 p. (in Russian)
9. Standard technological procedures for conducting anatomical studies: clinical guidelines RPS1.1 (2016) / PG Malkov, G.A. Frank, MA Fingers; Russian Society of Pathologists. – M.: Practical medicine, 2017. – 136 p. (in Russian)
10. *Khalid U., Pino-Chavez G., Nesargikar P., Jenkins R.H., Bowen T., Fraser D.J. and Chavez R.* Kidney ischaemia reperfusion injury in the rat: the EGTI scoring system as a valid and reliable tool for histological assessment. *J Histo Histopathol.* 2016; 3:1. <http://dx.doi.org/10.7243/2055-091X-3-1>

K.V. Sivak¹, T.N. Savateeva-Lyubimova¹, T.A. Gus'kova², G.N. Kul'bitzkiy³, M.L. Alexandrova³

BIOLOGICAL MARKERS AND MORPHOGENESIS OF ACUTE RENAL INJURY IN RAT DICHLOROETHANE POISONING

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

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

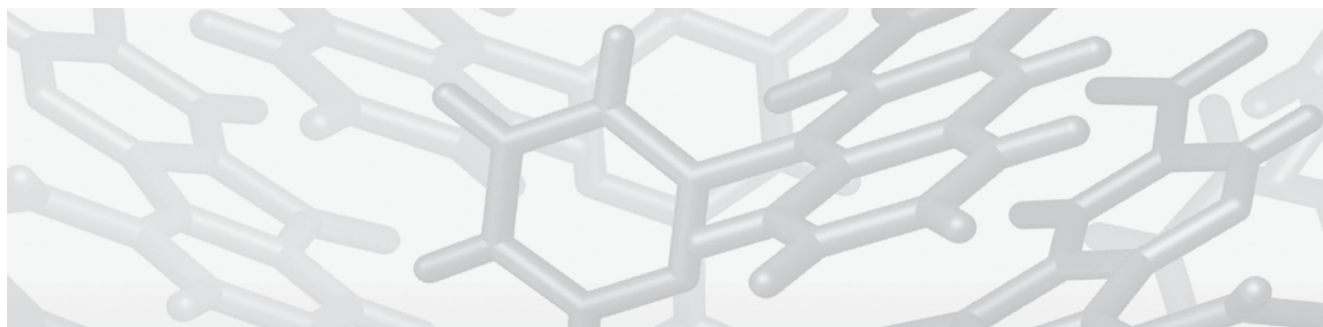
³Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

The article presents the results of an experimental study on rat poisoning with 1,2-dichloroethane (250 µl / kg, intragastric administration). The aim of this work was to find the relationship between biological markers and morphological changes in acute damage to rat kidneys with dichloroethane. The study of urine samples of experimental animals by gas-liquid chromatography (GLC) revealed 1,2-dichloroethane in the concentration range of 0,05 – 0,90 µg / ml (95% C.I. = 0,09 – 0,90 µg / ml). Daily excretion with urine was 0,60 – 4,50 µg / 16h (95% C.I. = 1,14 – 3,93 µg / ml). Levels of nephron-specific biomarkers in urine were 194,62 ± 9,02 IU / L (NAGase, $p = 0,0022$) and 2,93 ± 0,38 ng / ml (KIM-1, $p = 0,0022$), which exceeded those in the control group by 5 and 23 times, respectively. Edema, disorders of intrarenal hemodynamics, leukocyte migration in interstitium, uneven damage to various areas of the kidneys due to adipose dystrophy and necrobiotic changes in the nephrothelium of the proximal tubules mainly in the cortical layer of the kidneys have developed in the kidneys. Positive correlations between the level of 1,2-dichloroethane in the urine and the level of KIM-1 (Spearman $r = 0,7427$, 95% C.I. 0,2764 – 0,9260, $p = 0,0083$), β-N-acetylglucosaminidase (Spearman $r = 0,8248$, 95% C.I. 0,4613 – 0,9512, $p = 0,0019$), the scores on the EGTI scale (Spearman $r = 0,8064$, 95% C.I. 0,7126 – 0,8719, $p < 0,0001$); the level of KIM-1 and the scores on the EGTI scale (Spearman $r = 0,7427$, 95% C.I. 0,2764 – 0,9260, $p = 0,0083$), β-N-acetylglucosaminidase and the scores on the EGTI scale (Spearman $R = 0,4684$, 95% C.I. 0,2764 – 0,6244, $p < 0,0001$), the level of the low and medium molecular weight substances in the blood and the scores on the EGTI scale (Spearman $R = 0,6909$, 95% C.I. 0,5549 – 0,7909, $p < 0,0001$) were found.

Keywords: 1,2-dichloroethane, rats, acute kidney damage, GLC, creatinine clearance, KIM-1, NAGase, low and medium molecular weight substances.

Quote: K.V. Sivak, T.N. Savateeva-Lyubimova, T.A. Gus'kova, G.N. Kul'bitzkiy, M.L. Alexandrova. Biological markers and morphogenesis of acute renal injury in rat dichloroethane poisoning *Toxicological Review.* 2020; 1: 20-26.

Материал поступил в редакцию 20.08.2019 г.



ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ РАЗВИТИЯ НЕЙРОПАРАЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ОГНЕСТОЙКИХ ТУРБИННЫХ МАСЕЛ НА ОСНОВЕ ТРИАРИЛФОСФАТОВ

Г.И. Сидорин,
Л.В. Луковникова,
Л.И. Дьякова, Г.В. Шестова

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
«Институт токсикологии Федерального
медико-биологического агентства»,
192019, г. Санкт-Петербург,
Российская Федерация

В работе представлены результаты оценки токсичности и опасности развития нейропаралитического действия огнестойких турбинных масел: «Турбомас», «Т-94» и «Т-95», синтезированных на основе триарилфосфатов. По параметрам токсичности при введении в желудок и в брюшную полость исследованные масла характеризуются как малотоксичные вещества, проявляют слабовыраженные кумулятивные свойства, не раздражают кожные покровы и слизистые, проникают через неповрежденную кожу, повышают активность микросомальных ферментов. Изучение нейропаралитического действия масел «Турбомас», «Т-94» и «Т-95» не выявило у животных наличия клинических и морфологических признаков нарушений нервно-мышечного аппарата, что позволяет исключить возможность проявления нейропаралитического действия у лиц, контактирующих с исследованными маслами.

Ключевые слова: огнестойкие турбинные масла, производные триарилфосфатов, параметры токсичности, модель оценки нейропаралитического действия.

Цит.: Г.И. Сидорин, Л.В. Луковникова, Л.И. Дьякова, Г.В. Шестова. Токсичность и опасность развития нейропаралитического действия огнестойких турбинных масел на основе триарилфосфатов. Токсикологический вестник. 2020; 1: 27-33.

Введение. Исследования токсичности производных орто-фосфорной кислоты обусловлены их широким использованием в промышленности для синтеза огнестойких турбинных масел, в связи с уникальными физико-химическими свойствами арилфосфатов. В тридцатых годах прошлого столетия было синтезировано первое огнестойкое турбинное масло на основе изомеров трикрезилфосфата. Благодаря термической устойчивости трикрезилфосфаты (ТКФ) стали широко применять в производстве пластмасс, линолеумов, искусственных кож, эпоксидных смол, огнестойких турбинных масел, в системах регулирования и смазки турбин, взамен опасных в пожарном отношении минеральных масел. Огнестойкие масла на основе орто-фосфорной кислоты в отличие от минеральных, характеризуются более высокой температурой самовоспламенения (700-740°) и

температурой вспышки (360-240°С вместо 180°С). Именно эти физико-химические свойства позволили отнести огнестойкие масла к классу пожаробезопасных веществ, которые в отличие от минеральных масел при использовании в системах регулирования работы турбин не передают пламя по струе масла. По остальным физико-химическим и эксплуатационным свойствам масла, синтезированные на основе эфиров фосфорной кислоты, в полной мере соответствуют требованиям, предъявляемым к турбинным маслам. В результате использования в промышленности новых представителей класса орто-фосфорной кислоты было обнаружено, что при контакте с триарилфосфатами у работающих регистрировались неврологические расстройства, параличи и парезы. Клинические и экспериментальные исследования показали, что развитие тяжелой не-

Сидорин Геннадий Иванович (Sidorin Gennadiy Ivanovich), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, sidorin.g@mail.ru

Луковникова Любовь Владимировна (Lukovnikova Lubov Vladimirovna), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, lukovnikova.l.v@toxicology.ru

Дьякова Людмила Ивановна (Dyakova Ludmila Ivanovna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, lukovnikova.l.v@toxicology.ru

Шестова Галина Владимировна (Shestova Galina Vladimirovna), доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, gvshestova@mail.ru

врологической патологии является следствием нарушения структуры миелиновой оболочки седалищного нерва. В обзорной статье Ю.Д. Зильбера приводятся сведения о массовых отравлениях трикрезилфосфатом, которые характеризовались патологическими проявлениями со стороны центральной и периферической нервной системы в виде вялых парезов и параличей, протекающих по типу миело- и энцефало-радикулополиневритов [1]. Автор приводит данные морфологических исследований погибших, свидетельствующие о выявленной демиелинизации проводящих путей шейного и поясничного отделов спинного мозга и периферических нервов [1,2]. По мнению других исследователей в большом проценте случаев после острых отравлений трикрезилфосфатом оставались стойкие признаки интоксикаций [3,4]. Постепенно в работах, посвященных токсикологии фосфорорганических соединений (ФОС), сформировалось мнение о выраженном различии в характере токсического действия производных фосфорной кислоты, обусловленное для одних ФОС антихолинэстеразным действием, для других – неантихолинэстеразными патологическими проявлениями [1,5,7]. При этом особое внимание уделялось соединениям, способным вызывать повреждение миелиновой оболочки седалищного нерва, приводящие к развитию параличей и парезов. В этой связи появилась необходимость разработки экспериментальной модели, позволяющей оценить наиболее опасное свойство триарилфосфатов – способность повреждать структуру седалищного нерва. Одной из самых известных экспериментальных моделей оценки повреждения миелиновой оболочки седалищного нерва при интоксикации производными орто-фосфорной кислоты, является модель, предложенная Ю.Д. Зильбером [2], которая дает возможность не только выявить факт повреждения морфологической структуры седалищного нерва, но и предотвратить внедрение в промышленность наиболее опасных арилфосфатов, при контакте с которыми у рабочих возможно развитие неврологической патологии в виде нейропатий, параличей и парезов. Несмотря на отсутствие полного представления о патогенезе названной неврологической патологии общепризнанно, что они представляют собой результат реализации нехолинэргических механизмов действия производных орто-фосфорной кислоты [1,5,7]. Тем не менее, как отмечает С.В. Чепур, встречаются мнения, которые можно назвать «...парадоксальными, в ряде случаев весьма спекулятивными сведениями об инициации демиелинизирующей патологии при отравлениях боевыми отравляющими веществами, симптоматика смертельного отравления которыми развивается при поступлении яда в организм в количествах, недостаточных для эффективного взаимодей-

ствия с нехолинэргическими мишенями» [7].

Исследования зависимости химического строения и биологического действия арилфосфатов позволило установить ряд закономерностей, имеющих существенное значение для прогнозирования не только токсичности и опасности арилфосфатов, но и синтезируемых на их основе новых оптимальных рецептур турбинных масел, отвечающих требованиям безопасности и техническим условиям [1,6,8,9]. Было установлено, что для производных фенолфосфатов большое значение имеет изомерный состав. Так различные сочетания орто-, мета- и пара-крезилных изомеров (метилфенильных эфиров) могут приводить к образованию 10 различных образцов масел, существенно отличающихся друг от друга токсическими свойствами. Для диметильных (ксиленильных) эфиров таких сочетаний уже может быть 56, а в триарилфосфате, синтезированном из смеси фенола, крезола и ксиленола, количество различных комбинаций изомеров может достигать 220. Экспериментально доказано, что наиболее токсичными и опасными среди изомеров крезилфосфата, являются орто-изомеры, при контакте с которыми регистрируется развитие нейропаралитического действия [1,8,9].

В ряду арилфосфатов были выделены наиболее опасные – «токсофорные» группы: фенильная, орто-крезилная и 2-ксиленильная. При этом универсальной остается закономерность об исключительной опасности и наибольшей выраженности специфического нейропаралитического действия орто-изомеров [1,8,9]. Дальнейшие исследования убедительно показали, что нейропаралитическое действие сохраняется лишь у тех изомеров, метильная группа которых находится в орто-положении: 2,3; 2,4; 2,5; 2,6. Перенос метильной группы в молекуле триксиленилфосфатов в положение 3,4 и 3,5 приводит к снижению проявлений нейропаралитических свойств и ослабляет общетоксическое действие изомеров арилфосфатов [1,8]. Выявленные закономерности были использованы для синтеза высокотемпературных турбинных масел, в результате чего синтезированные на их основе огнестойкие масла практически нетоксичны [6]. При введении в желудок лабораторным животным средняя смертельная доза (DL_{50}) составляет от 20,0 до 25,0 г/кг и более. Кроме того, доказана закономерность проявления нейропаралитических свойств арилфосфатов от количества орто-замещенных метильных радикалов. Так специфическая токсичность моноортокрезилфосфата примерно в 10 раз больше, чем у триортокрезилфосфата и в ряду может быть представлена следующим образом: моноортокрезилфосфат > диортокрезилфосфат > триортокрезилфосфат [9]. Такая же зависимость сохраняется для ксиленилфосфатов, содержащих

метильную группу в орто-положении [1,8].

При выполнении морфологических исследований регистрировали разной степени выраженности нарушения липидной структуры миелиновых оболочек двигательных нервов. В зависимости от дозы выраженность демиелинизации варьировала, и в ряде случаев приводила к поражению осевого цилиндра, что еще больше затрудняло процесс восстановления [1,4,9].

Многочисленные гигиенические исследования показали, что существует опасность загрязнения воздуха производственных помещений маслами на основе триксиленилфосфатов через систему смазки турбин, имеющих большое количество технологических неплотностей, наличия открытых поверхностей, где образуются аэрозоли дезинтеграции и конденсации [6, 10]. В этой связи, несмотря на необходимость разработки и внедрения в промышленность новых рецептур масел на основе триарилфосфатов, исследования их нейротоксических свойств до сих пор не потеряли актуальности, поскольку представители этого класса соединений могут оказывать нейропаралитическое действие и представлять реальную опасность для здоровья работающих.

Цель исследования - оценить токсичность и опасность развития нейропаралитического действия при контакте с огнестойкими маслами на основе триарилфосфатов: «Турбомас», «Триксиленилфосфат-94» («Т-94») и «Триксиленилфосфат-95» («Т-95»).

Материалы и методы исследования. В работе исследованы три огнестойких масла: «Турбомас», «Триксиленилфосфат-94» («Т-94») и «Триксиленилфосфат-95» («Т-95»).

Масло «Турбомас» представляет собой синтетическую жидкость на основе эфиров фосфорной кислоты, без вязкостных присадок. Основным компонентом масла «Турбомас» является: дифенил-(п-третбутилфенил) фосфат-(70-95%), ди-пара-третбутилфенилфосфат-(5-30%), трифенилфосфат-(0-5%). По агрегатному состоянию масло «Турбомас» - маслянистая жидкость без цвета и запаха, плотность (при 20°C) 1,155 г/см³, температура кипения 450°C при 760 мм рт.ст., температура самовоспламенения 700°C.

Масла: «Триксиленилфосфат-94» («Т-94») и «Триксиленилфосфат-95» («Т-95») – маслянистые малолетучие жидкости, плохо растворимые в воде, растворимые в жирах, представляют собой смесь изомеров триксиленилфосфата, плотность «Т-94» – 1,130 г/см³, «Т-95» – 1,131 г/см³, T_{кип.} >350°C.

Эксперименты проводили на половозрелых, теплокровных животных: белых мышах, белых крысах, морских свинок. Определение параметров острой токсичности выполнялись на беспородных белых крысах и мышах, массой 180-200 г

и 18-20 г соответственно. Кумулятивные свойства масел исследовали на белых крысах по методу Lim et al. при введении в желудок, начиная с 0,1 от максимально возможной переносимой дозы, равной 20000 мг/кг, и далее по предлагаемой авторами схеме [11]. Способность исследуемых масел к кумуляции оценивали по смертельному эффекту, по влиянию масел на нервную систему (по суммации подпороговых импульсов, «норковому» рефлексу), по активности цитохром Р-450-зависимых МОГ, регистрируемую по продолжительности гексеналового сна [12, 13, 14]. Определение времени окисления гексенала (по длительности сна экспериментальных животных) относится к косвенным методам оценки состояния цитохром Р-450-зависимых МОГ. Метод прост в исполнении, и, вместе с тем, достаточно информативен. Поскольку гексенал относится к субстратам первого типа цитохром Р-450-зависимых МОГ, скорость его окисления, определяемая продолжительностью гексеналового сна, характеризует функциональное состояние цитохром Р-450-зависимых МОГ [14].

Исследование раздражающего действия масел проводили на крысах и морских свинках. У животных освобождали от шерсти симметричные участки кожи спины, размером 2х2 см, на которые наносили вещества в нативном виде. Время экспозиции - 4 часа, ежедневно, в течение 14 дней.

Способность проникать через неповрежденную кожу (кожно-резорбтивное действие) изучали на беспородных белых крысах путем нанесения масел на выстриженный участок кожи 2х2 см ежедневно на 4 часа в течение 14 дней. О резорбции масел судили по изменению скорости окисления гексенала, активности битирилхолинэстеразы, [14, 15], изменению массы тела животных, печени, семенников, простаты.

Оценку аллергенного эффекта проводили методом комбинированной сенсibilизации по Л.А. Дуевой [16].

Опасность повреждения седалищного нерва и как следствие - развитие нейропаралитического эффекта при действии исследуемых масел («Турбомас», «Т-94», «Т-95») исследовали на модели, предложенной Ю.Д. Зильбером [1,2]. Морским свинкам внутрикожно вводили 1,0 г/кг масла (доза равная дозе трикрезилфосфата, эталонного вещества, вызывающего нейропаралитический эффект). За животными наблюдали 30 дней, регистрировали динамику массы тела, состояние нервно-мышечного аппарата (по расстоянию между крайними пальцами задних конечностей, т.е. по величине «веера», и силе голоса).

По окончании эксперимента были проведены морфологические исследования миелиновой оболочки седалищного нерва.

Результаты и обсуждение. Картина отравления

животных после однократного введения исследуемых масел на уровне доз, близких к смертельным, была однотипной: животные становились вялыми, малоподвижными, неопрятными, гибель регистрировали на 2-4 сутки. При этом симптомов судорожного «холинэстеразного» эффекта, характерного для фосфорорганических веществ, не наблюдалось.

По результатам исследования острой токсичности при однократном введении в желудок изучаемых масел («Турбомас», «Т-94» и «Т-95») гибели животных не наблюдалось. Представленные в таблице 1 параметры токсичности масел позволяют сравнить их по уровню токсичности с три-3,5-ксиленилфосфатом, средняя смертельная доза (DL_{50}) которого составляет 25000 мг/кг, и отнести к малотоксичным и малоопасным соединениям (4 класс опасности, ГОСТ 12.1.007-76).

При исследовании кумулятивных свойств после введения суммарной дозы каждого масла 24400 мг/кг в желудок гибели животных не наблюдали, что позволяет в соответствии с классификацией Л.И. Медведя охарактеризовать изучаемые масла («Турбомас», «Т-94» и «Т-95») как вещества IV класса опасности, проявляющими слабые кумулятивные свойства ($K_{кум.} > 5$). Характеристики функционального состояния нервной системы (способность к суммации подпороговых импульсов «СПП» и «норковый» рефлекс) практически не отличались от контрольной группы, $p > 0,05$. Однако, как показали выполненные исследования, были обнаружены изменения активности цитохром Р-450-зависимых МОГ в виде уменьшения продолжительности гексеналового сна и увеличения массы печени, таблица 2. Известно, что многофункциональный ферментный комплекс, локализованный в основном на мембранах эндоплазматического ретикулаума клеток печени и почек (цитохром Р-450-зависимые МОГ) осуществляет превращения чужеродных соединений наряду с метаболизмом многих гидрофобных субстратов эндогенного происхождения: холестерина, гормонов, жирных кислот, витаминов и т.п. Поэтому поступление экзогенных химических

веществ, особенно жирорастворимых, подобных исследованным маслам, может приводить к изменению активности цитохром Р-450-зависимых МОГ, нарушению детоксицирующей функции печени и функциональным расстройствам многих органов и систем [14].

Известно, что практически все исследованные арилфосфаты, не оказывая местного раздражающего действия, способны проникать через неповрежденную кожу и вызывать развитие клинических симптомов интоксикации [1, 5, 6, 8]. Подтверждение этому были получены в наших исследованиях [17]. Однократные и повторные аппликации на кожу исследуемых масел не приводили к видимым изменениям целостности кожных покровов. Однако, было установлено, что масло «Турбомас» после повторного нанесения на кожу, проникает через неповрежденную кожу, вызывая повышение активности микросомальных ферментов, о чем свидетельствует достоверное уменьшение времени окисления гексенала ($21,89 \pm 1,91$ мин продолжительность сна у животных контрольной группы против $13,0 \pm 1,57$ мин у подопытных животных, $0,002 < p < 0,01$), одновременно регистрировали увеличение массы печени ($6,72 \pm 0,35$ г у контрольной группы животных, $8,47 \pm 0,34$ г у подопытной, $0,002 < p < 0,01$).

Однократная экспозиция масел на кожу и слизистые глаз на основе триксиленилфосфатов («Т-94» и «Т-95») не приводила к гибели животных, не вызывала видимых изменений кожных покровов и слизистых глаз. Повторные 14-дневные аппликации на кожные покровы белых крыс (с ежедневной 4-х часовой экспозицией) обнаружили способность ингибировать активность бутирилхолинэстеразы после аппликаций масла «Т-94» на 34% ($p < 0,001$) и на 30,4% ($p < 0,001$) после аппликаций масла «Т-95», что является характерным для действия эфиров орто-фосфорной кислоты. Оба масла вызывали увеличение скорости окисления гексенала ($p < 0,01$) по сравнению с показателями контрольной группы, таблица 3. Наряду с повышением активности микросомальных МОГ после накожных аппликаций исследованных ма-

Таблица 1

Параметры острой токсичности (DL_{50}) исследуемых масел

Название исследуемого масла	Параметры острой токсичности	
	введение в желудок, DL_{50} в мг/кг	введение в брюшную полость DL_{50} в мг/кг
Турбомас	20000,0	5000,0
Триксиленилфосфат -94	22600,0	–
Триксиленилфосфат -95	22620,0	–
Три -3,5-ксиленилфосфат	25000,0	–

Таблица 2

Изменение длительности гексеналового сна и массы печени белых крыс при исследовании кумулятивных свойств огнестойких масел ($M \pm m$, $n=10$)

Показатели	Группы животных	Названия масел		
		Турбомас	T-94	T-95
Длительность гексеналового сна (мин)	контрольная	24,67±1,50	24,67±1,50	24,67±1,50
	подопытная	13,18±2,14 $p < 0,001$	10,12±1,14 $p < 0,001$	12,16±2,64 $p < 0,001$
Масса печени (г)	контрольная	10,21±0,56	10,21±0,56	10,21±0,56
	подопытная	18,64±1,30 $p < 0,001$	16,90±2,13 $p < 0,02$	17,31±1,87 $p < 0,002$

Таблица 3

Изменение длительности гексеналового сна, массы печени, семенников, предстательной железы белых крыс после кожных аппликаций огнестойких масел на основе триксиленилфосфата (T-94, T-95, $M \pm m$, $n=10$)

Показатели	Группы животных	Названия масел	
		T-94	T-95
Длительность гексеналового сна (мин)	контрольная	20,64±2,61	20,64±2,61
	подопытная	12,16±2,02 $p < 0,01$	12,21±1,83 $p < 0,01$
Масса печени (г)	контрольная	6,94±0,62	6,94±0,62
	подопытная	9,68±1,03 $p < 0,05$	10,16±0,83 $p < 0,05$
Масса семенников (г)	контрольная	3,02±0,11	3,02±0,11
	подопытная	2,83±0,12 $p > 0,05$	2,95±0,15 $p > 0,05$
Масса предстательной железы (г)	контрольная	1,64±0,21	1,64±0,21
	подопытная	1,34±0,13 $p > 0,05$	1,23±0,18 $p > 0,05$

сел установлено достоверное увеличение массы печени ($p < 0,05$, табл. 3), предстательной железы на 20% при действии T-94 ($p > 0,05$), на 24% при интоксикации T-95 ($p > 0,05$) и выявлена тенденция к уменьшению массы семенников ($p > 0,05$, табл.3), что согласуется с известной информацией о влиянии арилфосфатов на половые железы (семенники, простату), как проявление их E-авитаминозного эффекта [1, 6, 8].

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что масла на основе триксиленилфосфатов («T-94» и «T-95»), также как практически все известные представители класса арилфосфатов, не оказывая местного раздражающего действия на кожу и слизистые, способны проникать через нее и приводить к развитию интоксикации.

По мнению некоторых авторов, отравление триарилфосфатами представляет собой не изолированный миелотоксический (демиелинизирующий) процесс седалищного нерва, а является генерализованным поражением мембран, с преи-

мущественным изменением их липидных структур [5,14]. Исследования Ю.С. Кагана, Л.А. Тиунова показали, что в организме экспериментальных животных трикрезилфосфаты подвергаются биотрансформации с одновременным угнетением в организме ферментов микросомальных МОГ печени [5,14]. Образующиеся промежуточные метаболиты триарилфосфатов способны взаимодействовать с липидными компонентами мембран, в том числе и миелиновой оболочки, окружающей осевой цилиндр, вызывая развитие характерного клинического симптомокомплекса, подобного тому, что имеет место при отравлении трикрезилфосфатом [1, 9, 18, 19, 20, 21].

Еще одним подтверждением того, что нейропаралитическое действие арилфосфатов не избирательный процесс поражения миелиновых оболочек, а представляет собой генерализованное поражение мембран с преимущественным повреждением их липидных структур, является появление признаков E-авитаминозной недостаточности

Таблица 4

Изменение массы тела морских свинок после внутрикожного введения 1,0 г/кг исследуемых огнестойких масел Турбомас, Т-94, Т-95 (M±m, n=10)

Названия исследуемых масел	Изменение массы тела морских свинок (г)	
	масса тела морских свинок (г) в начале эксперимента	масса тела морских свинок (г) через 30 дней
Турбомас	878,66±31,40	866,83±22,91 p>0,05
Т-94	880,24±22,80	876,34±32,60 p>0,05
Т-95	882,60±34,27	868,82±12,33 p>0,05
Контрольная группа	888,75±38,03	910,75±40,0 p>0,05

в виде: дистрофии мышц, креатинурии, повышении активности протеолитических ферментов, атрофии семенников, снижении перекисной резистентности эритроцитарных и других мембран [5, 6, 8, 14, 17].

Исследования нейропаралитического действия масел «Турбомас», «Т-94», «Т-95» после однократного введения дозы 1,0 г/кг, не выявили статистически значимых различий в расстояниях между крайними пальцами задних конечностей (величина «веера»), не было обнаружено и различия в силе голоса животных. Вместе с тем установлено отставание подопытных животных в прибавлении массы тела, таблица 4.

Патоморфологические исследования препаратов седалищного нерва (окраска суданом черным Б) показали, что миелиновая оболочка седалищных нервов имела темно-синий цвет и обычное строение, различий при просмотре препаратов контрольных и подопытных животных не наблюдалось. В препаратах подопытной группы животных, окрашенных по методу Марки, также как и в препаратах контрольной группы, можно было видеть только бледно-желтое окрашивание фона, в то же время характерные признаки дегенеративно измененного миелина - глыбки Марки черного цвета, отсутствовали.

Экспериментально доказано, что изучаемые масла «Турбомас», «Т-94», «Т-95» не вызывают сенсibilизации организма и не являются потенциальными аллергенами.

Заключение. Результаты изучения специфического нейропаралитического действия масел «Турбомас», «Т-94» и «Т-95» не выявили у испытуемых животных наличия клинических и морфологических признаков нарушений функций нервно-мышечного аппарата,

что позволяет исключить возможность проявления нейропаралитического действия у лиц, контактирующих с исследованными маслами.

По уровню токсичности изученные масла: «Турбомас», «Т-94» и «Т-95» можно сравнить с малотоксичными веществами - 4 класс опасности (малотоксичные соединения ГОСТ 12.1.007-76).

Огнестойкие масла («Турбомас», «Т-94» и «Т-95») после однократного и повторного нанесения на кожу и слизистые глаз не вызывают признаков раздражения, но проникают через неповрежденную кожу, повышают активность микросомальных ферментов печени, поэтому при производстве и применении масел «Турбомас», «Т-94» и «Т-95» необходимо предусмотреть защиту кожных покровов.

Экспериментально доказано, что исследованные масла («Турбомас», «Т-94» и «Т-95») не вызывают сенсibilизации и не являются потенциальными аллергенами, проявляют слабые кумулятивные свойства.

Обязательным условием при внедрении в промышленность новых рецептов огнестойких масел на основе триарилфосфатов является исследование нейропаралитического действия, поскольку представители этого класса соединений, в зависимости от изомерного состава, могут приводить к повреждению миелиновых структур седалищного нерва. В настоящее время синтез менее токсичных и опасных образцов турбинных масел осуществляется по двум направлениям: с одной стороны - ограничением содержания в рецептуре масла орто-изомеров трикрезилфосфата с 37% до 1%, с другой стороны - заменой орто-изомеров на менее токсичные арилфосфаты, например, триксиленилфосфаты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зильбер Ю.Д. Нейропаралитическое действие ядов. В кн.: Актуальные вопросы промышленной токсикологии. Л.: 1970: 129-144.

2. Зильбер Ю.Д. Особенности токсических свойств триарилфосфатов и некоторые механизмы их демиелинизирующего действия. В кн.: Вопросы общей и частной

промышленной токсикологии. Л.: 1965: 135-152.

3. Дрогичина Э.А. Токсические полиневриты и энцефаломиелополиневриты.

М.: Медицина; 1959.

4. Дрогичина Э.А., Толская М.С. К гистологии нервной системы при экспериментальной интоксикации

триортотриэтилфосфатом. Труды АМН СССР. 1954; 31: 189-202.

5. Коган Ю.С. Медико-биологические аспекты проблемы профилактики воздействия пестицидов. Вестник Академии медицинских наук СССР. 1991;1: 48-52.

6. Зильбер Ю.Д., Гадаскина И.Д. Токсичность триарилфосфатов и разработка мероприятий по их безопасному применению в качестве огнестойких турбинных масел. В кн.: Огнестойкие турбинные масла. М.; 1974: 89-99.

7. Чепур С.В. Отдаленные органофосфатные нейротоксические патогенез, профилактика и лечение. Токсикологический вестник. 2010; 3: 42-43.

8. Дворкин Э.А. Химическое строение и биологическое действие сложных эфиров ортофосфорной кислоты. В кн.: Некоторые вопросы экспериментальной

промышленной токсикологии. Л.; 1977: 18-23.

9. Henschler D., Die Trikresylphosphat Vergiftung. Klinische Wochen-schrift. 1958; 36 (14): 663-674.

10. Трофимов В.А., Дворкин Э.А. Токсиколого-гигиеническая оценка огнестойкого масла ОМТИ. Гигиена труда. 1974; 10: 25-28.

11. Lim R. K., Rink K.G., Glass H.G. [at al.] A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie. 1961; 30: 336-353.

12. Закусов В.В. Фармакология центральных синапсов. Москва: Медицина, 1973.

13. Фролова А.Д., Дворкин Э.А., Лисман М.Б., Луквникова Л.В., Нецаева Е.Н., Сидорин Г.И. К использованию

показателей поведенческих реакций в токсикологическом эксперименте. Гигиена и санитария. 1980; 8:53-57.

14. Тиуннов Л.А. Основные механизмы метаболизма ксенобиотиков в организме человека и животных. В кн.: Итоги науки и техники. Токсикология. М.; 1981:12: 5-64.

15. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник под редакцией В.В.Меньшикова. Москва: Медицина, 1987.

16. Алексеева О.Г., Дуйева Л.А. Аллергия к промышленным химическим соединениям. М.: Медицина; 1978.

17. Луквникова Л.В., Сидорин Г.И., Дьякова Л.И. О токсичности и опасности огнестойкого турбинного масла «Турбомас». В кн.: Материалы Международного Форума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды: «Современные проблемы оценки

рисками здоровью населения и окружающей среды, пути их рационального решения». М.; 2018: 213-215.

18. Song M. I. Involvement of autophagy in tri-orto-cresyl phosphate-induced delayed neuropathy in hens. Neurochemistry International. 2014; 64: 1-8.

19. Reji K. K., Mathew V., Zachariah A. [et al.] Extrapyramidal effects of acute organophosphate poisoning. Clinical toxicology. 2016; 54 (3): 259-265.

20. Abuser Coskun, Afsin Emre Kayipmaz, Sedat Ozbay1, Osman Mahir Okur Delayed organophosphate induced polyneuropathy. Medical Science and Discovery. 2015; 4 (2): 271-274.

21. Indu T.H., Raja D., Ponnusankar S. Toxicoepidemiology of acute poisoning cases in secondary care hospital in rural South India: A five-year analysis. Postgraduate Medical Journal. 2015; 61 (3): 159-162.

REFERENCES:

1. Zil'ber Yu.D. Neuroparalytic action of poisons. In: Topical issues of industrial toxicology. Leningrad; 1970: 129-144.; (in Russian).

2. Zil'ber Yu.D. Peculiarities of toxic properties of triaryl phosphates and some mechanisms of their demyelinating action. In: Questions of general and private industrial toxicology. Leningrad; 1965: 135-152. (in Russian).

3. Drogichina E.A. Toxic polyneuritis and encephalomyeloneuritis. Moscow: Meditsina; 1959. (in Russian).

4. Drogichina E.A., Tolgskaya M.S. To the histology of the nervous system during experimental intoxication with triortotriethylphosphate. Trudy AMN SSSR. 1954; 31: 189-202. (in Russian).

5. Kagan Yu. S. Biomedical aspects of the problem of preventing exposure to pesticides. Vestnik Akademii meditsinskikh nauk SSSR. 1991;1: 48-52. (in Russian).

6. Zil'ber Yu.D., Gadaskina I.D. The toxicity of triaryl phosphates and the development of measures for their safe use as fire-

resistant turbine oils. In: Fire-resistant turbine oils. Moscow; 1974: 89-99. (in Russian).

7. Chepur S.V. Distant organophosphate neuropathies: pathogenesis, prevention and treatment. Toksikologicheskii vestnik. 2010; 3: 42-43. (in Russian).

8. Dvorkin E.A. Chemical structure and biological action of orthophosphoric acid esters. In: Some issues of experimental industrial toxicology. Leningrad; 1977: 18-23. (in Russian).

9. Henschler D., Die Trikresylphosphat Vergiftung. Klinische Wochen-schrift. 1958; 36 (14): 663-674.

10. Trofimov V.A., Dvorkin E.A. Toxicological and hygienic assessment of fire-resistant oil OMTI. Gигиена труда. 1974; 10: 25-28. (in Russian).

11. Lim R. K., Rink K.G., Glass H.G. [at al.] A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie. 1961; 30: 336-353.

12. Zakusov V.V. Farmakologiya central'nyh sinapsov. Moscow: Medicina; 1973. (in Russian).

13. Frolova A.D., Dvorkin E.A., Lisman M.B., Lukovnikova L.V., Nechaeva E.N., Sidorin G.I. K ispol'zovaniyu pokazatelej povedencheskih reakcij v toksikologicheskom eksperimente. Gигиена i sanitariya. 1980; 8:53-57. (in Russian).

14. Tiunov L.A. The main mechanisms of xenobiotic metabolism in humans and animals. In: Results of science and technology. Toxicology. Moscow; 1981: 12: 5-64. (in Russian).

15. Laboratory research, methods in clinic V.V. Men'shikova. Moscow: Medicina, 1987. (in Russian).

16. Alekseyeva O.G., Duyeva L.A. Allergy to industrial chemicals. Moscow: Medicina; 1978. (in Russian).

17. Lukovnikova L.V., Sidorin G.I., D'yakova L.I. About toxicity and danger of fire-resistant turbine oil «Turbomas». In: Materials of the International Forum of the Scientific Council of the Russian Federation on

Human Ecology and Environmental Hygiene: «Current problems of assessing, forecasting and managing environmental risks to public health and the environment, ways to solve them rationally Moscow»; 2018: 213-215. (in Russian).

18. Song M. I. Involvement of autophagy in tri-orto-cresyl phosphate-induced delayed neuropathy in hens. Neurochemistry International. 2014; 64: 1-8.

19. Reji K. K., Mathew V., Zachariah A. [et al.] Extrapyramidal effects of acute organophosphate poisoning. Clinical toxicology. 2016; 54 (3): 259-265.

20. Abuser Coskun, Afsin Emre Kayipmaz, Sedat Ozbay1, Osman Mahir Okur Delayed organophosphate induced polyneuropathy. Medical Science and Discovery. 2015; 4 (2): 271-274.

21. Indu T.H., Raja D., Ponnusankar S. Toxicoepidemiology of acute poisoning cases in secondary care hospital in rural South India: A five-year analysis. Postgraduate Medical Journal. 2015; 61 (3): 159-162.

G.I. Sidorin, L.V. Lukovnikova, L.I. Dyakova, G.V. Shestova

TOXICITY AND HAZARD OF NEUROPARALYTIC ACTION OF FIRE-RESISTANT TURBINE OILS BASED ON TRIARYL PHOSPHATES

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

The paper presents the results of assessing the toxicity and danger of the development of neuroparalytic effect of fire-resistant turbine oils «Turbomas», «T-94» and «T-95» based on triaryl phosphates. According to the toxicity parameters, the studied oils are low-toxic substances, exhibit weakly expressed cumulative properties, do not irritate the skin and mucous membranes, penetrate through intact skin, and increase the activity of microsomal enzymes, when injected into the stomach and abdominal cavity. The study of the neuroparalytic action of oils «Turbomas», «T-94» and «T-95» did not reveal the presence of clinical and morphological signs of disorders of the neuromuscular apparatus in animals, which makes it possible to exclude the possibility of neuroparalytic action in persons in contact with the studied oils.

Keywords: fire-resistant turbine oils, triaryl phosphate derivatives, toxicity parameters, model for assessing neuroparalytic action.

Quote: G.I. Sidorin, L.V. Lukovnikova, L.I. Dyakova, G.V. Shestova. Toxicity and hazard of neuroparalytic action of fire-resistant turbine oils based on triaryl phosphates. Toxicological Review. 2020; 1: 27-33.

Переработанный материал поступил в редакцию 15.11.2019 г.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ (ПДК) ДИОКТИЛТЕРЕФТАЛАТА В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

А.С. Радилов, С.А. Солнцева,
И.Е. Шкаева, С.А. Дулов,
Е.В. Вивуланец, Г.А. Протасова,
Л.В. Шабашева, О.С. Никулина

ФГУП «Научно-исследовательский институт
гигиены, профпатологии и экологии
человека» ФМБА России, 188663,
Ленинградская область, Всеволожский
район, г.п. Кузьмоловский, Российская
Федерация

Проведена оценка токсичности и опасности диоктилтерефталата (ДОТФ) в острых, подострых и хроническом экспериментах, установлены основные параметры токсикометрии. В результате выявлено, что диоктилтерефталат при однократном поступлении в организм является малотоксичным и малоопасным, не обладает кожно-резорбтивным и раздражающим действием на кожу лабораторных животных и слизистые оболочки глаз. Порог однократного ингаляционного действия диоктилтерефталата установлен на уровне 300 мг/м³ по изменению функционального состояния ЦНС, миокарда и гематологических показателей.

В подострых 30-суточных экспериментах (при внутрижелудочном введении, ингаляционном воздействии и накожных аппликациях) не обнаружено выраженных кумулятивных свойств вещества.

В хроническом 4-месячном ингаляционном эксперименте воздействие аэрозоля ДОТФ в концентрации 96,8 мг/м³ вызывало у подопытных животных нарушение функционального состояния ЦНС, миокарда, изменения гематологических, биохимических показателей, газового и кислотно-основного состояния крови, морфологические изменения в легких и сердце. Эмбриотоксического, генотоксического и гонадотоксического эффекта не выявлено.

В качестве порога хронического действия ДОТФ - Lim_{ch} принята величина 18,6 мг/м³, концентрация 3,4 мг/м³ явилась недействующей.

По результатам проведенных исследований обоснована ПДК в воздухе рабочей зоны 3,0 мг/м³, 3 класс опасности, п+а.

Ключевые слова: диоктилтерефталат, токсичность, опасность, гигиенический норматив.

Цит.: А.С. Радилов, С.А. Солнцева, И.Е. Шкаева, С.А. Дулов, Е.В. Вивуланец, Г.А. Протасова, Л.В. Шабашева, О.С. Никулина. Экспериментальное обоснование предельно допустимой концентрации (ПДК) диоктилтерефталата в воздухе рабочей зоны. Токсикологический вестник. 2020; 1: 34-38.

Введение. Диоктилтерефталат (ди-2-этилгексил-1,4-бензолдикарбоксилат, ДОТФ) – сложный эфир терефталевой кислоты, является одним из представителей группы пластификаторов.

Согласно литературным сведениям, фталаты при однократном воздействии, в основном,

относятся к малотоксичным веществам [1 – 4]. В условиях длительного поступления в организм производные фталевых кислот способны накапливаться и вызывать интоксикацию, оказывая политропное действие с нарушением функции ЦНС, печени, почек, легких, системы крови, обладают гонадо- и эмбриотоксическим

Радилов Андрей Станиславович (Radilov Andrey Stanislavovich), доктор медицинских наук, профессор, и.о. директора ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, piigrech@nihorphe.ru

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

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

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

Вивуланец Елена Валерьевна (Vivulanets Elena Valerievna), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

Протасова Галина Аркадьевна (Protasova Galina Arkadievna), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

Шабашева Лилия Владимировна (Shabasheva Liliya Vladimirovna), старший научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

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

эффектом [5 – 11]. В производственных условиях фталаты представляют опасность при ингаляционном воздействии в виде аэрозоля, в связи с чем эти соединения отнесены к высокоопасным (2 класс опасности). По причине высокой опасности применение этих соединений ограничено. Для замены диоктилфталата предполагается использовать диоктилтерефталат, однако до настоящего времени гигиенические нормативы ДОТФ в воздухе рабочей зоны отсутствовали [12, 13].

В задачу исследований входила оценка токсичности и опасности диоктилтерефталата при различных условиях воздействия для обоснования гигиенического норматива в воздухе рабочей зоны.

Материалы и методы исследования. Диоктилтерефталат представляет собой бесцветную маслянистую жидкость со слабым запахом, температура кипения – 400°C, растворимость в воде – 0,4 мг/л.

Исследования проводили в соответствии с «Методическими указаниями к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны» [14]. В экспериментах использовали крыс линии Wistar и нелинейных животных – белых крыс и мышей. Токсические свойства диоктилтерефталата изучали в острых, подострых 30-суточных и хроническом 4-месячном экспериментах.

Опасность острых отравлений ДОТФ определяли при пероральном, внутрибрюшинном и ингаляционном путях поступления в организм, а также при контакте с кожными покровами. Внутрижелудочное введение вещества осуществляли с помощью атравматичного зонда. Моделирование ингаляционного воздействия ДОТФ на лабораторных животных проводили как в статических условиях при свободном испарении вещества (при комнатной температуре), так и динамическим способом в специальных стальных герметичных камерах объемом 600 дм³. Аэрозоль ДОТФ генерировали методом конденсации пара. Дозированную подачу ДОТФ осуществляли путем внесения расчетной дозы вещества в генератор пара с учетом сорбционных потерь на стенках камеры и в воздуховодах.

Контроль за содержанием диоктилтерефталата в воздушной среде камер проводили газохроматографическим методом с пламенно-ионизационным детектированием.

Время экспозиции при однократном ингаляционном воздействии для мышей составляло 2 часа, для крыс – 4 часа.

С целью выявления кумулятивных свойств диоктилтерефталата при различных путях поступления в организм проведены подострые

эксперименты. Подопытным крысам вводили внутрижелудочно вещество в дозе 20000 мг/кг ежедневно в течение 30 суток, суммарная доза – 600000 мг/кг. Для оценки местного раздражающего и кожно-резорбтивного действия вещества в подостром опыте в течение 30 суток ежедневно, кроме выходных дней, наносили ДОТФ в дозе 2500 мг/кг на участок кожи спины крыс (размером 50 см²). Плотность аппликации ДОТФ на кожу составляла около 20,0 ± 2 мг/см², суммарная доза вещества за составила 65000 мг/кг.

Кумулятивные свойства ДОТФ изучали и при ингаляционном пути поступления в организм, подопытные крысы подвергались воздействию вещества в концентрации 115,0 ± 9,6 мг/м³ в течение 30 суток (по 4 часа в день, кроме выходных).

С целью изучения хронической интоксикации подопытные животные подвергались ингаляционному воздействию аэрозоля ДОТФ в течение 4 месяцев, ежедневно по 4 часа (кроме выходных дней). Испытывали концентрации вещества: 96,8 ± 15,4 мг/м³, 18,6 ± 1,9 мг/м³, 3,4 ± 0,4 мг/м³. Обследование животных проводили в динамике на протяжении хронического эксперимента и через 30 суток после окончания ингаляционного воздействия ДОТФ (восстановительный период).

В ходе экспериментов наблюдали клиническую картину интоксикации, фиксировали гибель и оценивали влияние вещества на организм по различным показателям интоксикации (интегральные, гематологические, биохимические методы, а также методы оценки газового и кислотно-основного состояния крови, оценки функции нервной, дыхательной систем, миокарда). Изучали эмбриотоксическое, генотоксическое и гонадотоксическое действие диоктилтерефталата, проводили патологоанатомическое исследование подопытных животных.

Результаты и обсуждение. Проведенными экспериментальными исследованиями установлено, что диоктилтерефталат в условиях однократного поступления в организм является малотоксичным и малоопасным, внутрижелудочное и внутрибрюшинное введение подопытным животным ДОТФ в максимально допустимых дозах (мышам – 26000 мг/кг, крысам – 20000 мг/кг) не вызывало гибели или признаков интоксикации. Вещество является малолетучим, в связи с чем, при ингаляции в условиях свободного испарения, гибели подопытных животных или признаков интоксикации не наблюдалось.

При ингаляционном воздействии аэрозоля ДОТФ на крыс в максимально достижимой концентрации (3600 мг/м³) гибели животных

или признаков интоксикации не отмечено, для мышей установлена CL_{50} 4032 мг/м³. В клинической картине острого ингаляционного отравления преобладали адинамия и нарушения дыхания. Гибель животных наступала во время экспозиции или в течение 1 суток после воздействия. На вскрытии погибших животных – альвеолярный отек, кровоизлияния, ателектазы в легких.

ДОТФ не обладает кожно-резорбтивным и раздражающим действием на слизистые оболочки глаз и кожу лабораторных животных при однократных аппликациях.

Порог однократного ингаляционного действия ДОТФ установлен на уровне 300 мг/м³ по изменению функционального состояния ЦНС, миокарда и гематологических показателей.

В подострых 30-суточных экспериментах (при внутрижелудочном введении вещества в дозе 20000 мг/кг и ингаляционном воздействии в концентрации 115 мг/м³) гибели подопытных животных не наблюдалось, однако обнаружены проявления токсического действия ДОТФ – снижение прироста массы тела, нарушения функции ЦНС, изменения кислотно-основного и газового обмена, характеризующие снижение усвоения кислорода, поражение легких в виде интерстициального и альвеолярного отека, диффузного макрофагального альвеолита и ателектазов. Следует отметить, что патологические изменения в легких развивались также и при накожных 30-суточных аппликациях в дозе 2500 мг/кг.

В хроническом 4-месячном ингаляционном эксперименте воздействие ДОТФ в концентрации 96,8 мг/м³ вызывало нарушение функционального состояния ЦНС у подопытных крыс. Наблюдали активизацию поведенческих реакций, в частности, увеличение «горизонтального» компонента двигательной активности, достигавшее достоверных отличий ($P < 0,05$) от контрольной группы через 90 и 120 суток воздействия ДОТФ. Динамика ориентировочно-исследовательских реакций у подопытных крыс 1 группы характеризовалась достоверным снижением «вертикального» компонента двигательной активности – через 30 суток до 27,3 % от контрольной группы, через 90 и 120 суток эксперимента – 55,5% и 66,7% соответственно.

Отмеченные изменения сопровождались повышением эмоционального уровня (тревожности) подопытных крыс, о чем судили по увеличению груминга, наиболее выраженного через 60 и 90 суток воздействия ДОТФ.

К концу хронического эксперимента у этих же животных обнаружено снижение частоты дыхания (до 171,9 в мин. при 188,9 в мин. в контрольной группе).

При изучении состояния сердечной деятельности отмечено увеличение амплитуды зубца Р ($P < 0,05$) через 60 суток воздействия веществом.

Однако, при анализе ЭКГ изолированного сердца подопытных крыс выявлены увеличение амплитуды зубцов R и T и тенденции к увеличению интервала QT и к укорочению PR-интервала, что может указывать на возможное развитие преждевременного возбуждения желудочков, что косвенно характеризуется увеличением максимальной скорости сокращения миокарда.

В периферической крови подопытных крыс обнаружено достоверное ($P < 0,05$) снижение содержания гемоглобина (HGB) и гематокрита через 60 и 120 суток эксперимента. Данные изменения сочетались с уменьшением среднего объема эритроцитов (MCV), что может являться признаком железодефицитной анемии. Показатель гетерогенности эритроцитов достоверно увеличился на 30 сутки воздействия ДОТФ, при этом эритропению у подопытных крыс не регистрировали, в связи с чем отмеченные изменения следует оценивать как незначительные.

При изучении клеток крови лейкоцитарного ряда в ходе эксперимента у подопытных животных отмечен лейкоцитоз на 30 сутки воздействия ДОТФ, очевидно, обусловленный незначительным повышением нейтрофилов.

Исследование газового состава крови крыс показало, что длительное воздействие ДОТФ вызывало повышение парциального давления кислорода на 120 сутки и содержания альвеолярного кислорода, что является признаком уменьшения сродства гемоглобина к кислороду. Отмеченные изменения сопровождались артериальной гипоканией и респираторным алкалозом, о чем свидетельствовало снижение парциального давления углекислого газа (pCO_2) у этих же животных через 30 и 120 суток эксперимента. При анализе кислотно-основного состояния крови подопытных животных обнаружено изменение бикарбонатной буферной системы – повышение избытка оснований крови (Veb) через 60 суток на 46,9% и к концу эксперимента – на 7 % от контрольного уровня и достоверное увеличение ($P < 0,05$) оснований внеклеточной жидкости – BE_{scf} , а также концентрации стандартных буферных бикарбонатов.

Биохимическими исследованиями обнаружено, что длительное воздействие ДОТФ в концентрации 96,8 мг/м³ вызывало угнетение активности лактатдегидрогеназы ($P < 0,05$) и снижением содержания лактата в сыворотке крови подопытных крыс на 46,2% от контрольной группы через 60 суток и на 13% – к концу эксперимента.

При морфологическом исследовании в легких

подопытных крыс обнаружены мелкие кровоизлияния и микроателектазы. Анализ гистологических препаратов сердца выявил единичные случаи патологии миокарда в виде полиморфноклеточных инфильтратов, в центре которых располагались микронекрозы с микрокровоизлияниями.

Через 30 суток восстановительного периода изменения, отмеченные в процессе воздействия ДОТФ (поведенческие реакции, гематологические показатели, газовое и кислотно-основное состояние, морфологические изменения в легких) сохранялись.

У подопытных крыс, подвергавшихся воздействию ДОТФ в концентрации 18,6 мг/м³, отмечены аналогичные по направленности, но менее выраженные изменения отдельных показателей функционального состояния нервной системы, гематологических тестов, газового и кислотно-основного состояния крови. В восстановительный период отмеченные изменения нормализовались, и подопытные крысы не отличались от контрольных.

Воздействие ДОТФ в концентрации 3,4 мг/м³ не вызывало достоверных изменений изученных показателей.

Проведенными исследованиями показано, что длительное ингаляционное воздействие ДОТФ в изучаемых концентрациях не вызывало эмбриотоксического эффекта, не выявлено повреждающего действия на физическое состояние и развитие (масса тела, кранио-каудальный размер, головы, органов зрения, конечностей и т.п.) плодов беременных крыс.

При изучении генотоксических свойств диоктилтерефталата не обнаружено повреждений ДНК в клетках костного мозга подопытных крыс.

Не обнаружено и проявлений гонадотоксического действия ДОТФ (масса и коэффициенты массы семенников и эпидидимисов крыс-самцов, количество патологических форм сперматозоидов в группах соответствуют показателям контрольных животных).

По объему и характеру отмеченных изменений концентрацию ДОТФ 96,8 мг/м³ следует счи-

тать действующей, концентрацию 18,6 мг/м³ – близкой к пороговой, 3,4 мг/м³ – недействующей в условиях хронического 4-месячного ингаляционного эксперимента.

Заключение. ДОТФ предполагается использовать в качестве заменителя диоктилфталата. С целью обоснования безопасного уровня ДОТФ в воздухе производственных помещений проведена оценка опасности вещества в острых, подострых и хронических экспериментах. Установлено, что ДОТФ в условиях однократного поступления в организм при внутрижелудочном, наочном воздействии и ингаляции в виде насыщенного пара является малотоксичным и малоопасным. Наиболее опасным является ингаляция аэрозоля ДОТФ, для мышей установлена CL_{50} 4032 мг/м³.

Порог однократного ингаляционного действия аэрозоля ДОТФ обоснован на уровне 300 мг/м³.

В подострых 30-суточных экспериментах при различных путях поступления в организм выраженных кумулятивных свойств ДОТФ не обнаружено.

Наиболее выраженные проявления токсического действия вещества выявлены в хроническом 4-месячном ингаляционном эксперименте – воздействие аэрозоля ДОТФ в концентрации 96,8 мг/м³ вызывало нарушение функционального состояния ЦНС, миокарда, изменения гематологических, биохимических показателей, газового и кислотно-основного состояния крови, морфологические изменения в легких и сердце, сохранявшиеся и через 30 суток восстановительного периода. В отличие от диоктилфталата у ДОТФ эмбриотоксического, генотоксического и гонадотоксического эффекта не обнаружено. Порог хронического действия составил 18,6 мг/м³, недействующая концентрация – 3,4 мг/м³.

На основании комплекса проведенных исследований обоснована величина предельно допустимой концентрации диоктилтерефталата в воздухе рабочей зоны 3,0 мг/м³, 3 класс опасности, п+а.

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. Hygien. Environ Health. 2007; 210 (5): 623 – 634.
5. Hauser R. Phthalates and human health. Occup. And Environ Med. 2005; 62 (11): 806 – 818.
6. Коренева Е.М., Карпенко Н.А., Казак В.А. Экзогенные факторы гипфертильности. Компоненты пластмасс – фталаты. Репродуктивная эндокринология. 2011; 2: 62 – 67.
7. Lowekamp-Swan T., Davis B. J. Mechanisms of Phthalate ester toxicity in the female reproductive system. Environ Health Perspect. 2003; 111 (2): 139 – 145.
8. David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in rats. Toxicol. Sci. 2000; 55: 433 – 443.
9. David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in mice. Toxicol. Sci. 2000; 58: 377 – 385.
10. 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 – 467.
11. Kwon B., Kyunghee J. Estrogenic and Androgenic Potential of Phthalates and Their Alternatives. Korean Journal of Environmental Health Sciences. 2016; 42 (3): 169 – 188.
12. Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.2308-07. М.: Роспотребнадзор; 2008.
13. Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.3532 - 18. М.: РРПОХБВ Минздрава России, 2018.
14. Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны. М.; 1980.

REFERENCES:

1. Danishevsky S.L. Complex ethers. In: Hazardous Substances in Industry. Lazarev, N.V., Ed., 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., Dyshinevich N.E., Sova 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. Hygien. Environ Health. 2007; 210 (5): 623 – 634.
5. Hauser R. Phthalates and human health. Occup. And Environ Med. 2005; 62 (11): 806 - 818.
6. Koreneva E.M., Karpenko N.A., Kazak V.A. Xenogenetic Factors of Hypofertility. Plastic Components – Phthalates. Reprodikt. Endokrin. 2011; 2: 62 – 67 (in Russian).
7. Lowekamp-Swan T., Davis B. J. Mechanisms of Phthalate ester toxicity in the female reproductive system. Environ Health Perspect. 2003; 111 (2): 139 – 145.
8. David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate in rats. Toxicol. Sci. 2000; 55: 433 – 443.
9. David R.M., Moore M.R., Finney D.C., Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate in mice. Toxicol. Sci. 2000; 58: 377 – 385.
10. 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 – 467.
11. Kwon B., Kyunghye J. Estrogenic and Androgenic Potential of Phthalates and Their Alternatives. Korean Journal of Environmental Health Sciences. 2016; 42 (3): 169 – 188.
12. Tentative Safe Exposure Levels (TSEL) of Hazardous Substances in Workplace Air. Hygienic Standards HS 2.2.5.2308-07. Moscow: Rosпотребнадзор; 2008 (in Russian).
13. Maximum Allowable Concentrations (MAC) of Hazardous Substances Pollutants in Workplace Air. Hygienic Standards HS 2.2.5.3532 – 18. Moscow: RRPOKhBV Minzdrava Rossii; 2018 (in Russian).
14. Methodical Guidelines to Organization of Research on the Validation of Regulatory Standards for Hazardous Substances in Workplace Air. Moscow; 1980 (in Russian).

A.S. Radilov, S.A. Solntseva, I.E. Shkaeva, S.A. Dulov, E.V. Vivulanets, G.A. Protasova, L.V. Shabasheva, O.S. Nikulina

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE MAXIMUM ALLOWABLE CONCENTRATION OF DIOCTYL TEREPHTHALATE IN THE AIR OF THE WORKING AREA

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663, Kuzmolovsky, Leningrad region, Russian Federation

Toxicity and hazard assessment of dioctyl terephthalate (DOTP) was performed in acute, subacute, and chronic experiments, and its principal toxicometry parameters were determined.

It was found that on single exposure DOTP exhibits low toxicity and hazard. No resorptive and irritant effects on skin and mucous membrane of eyes were detected in animal experiments. The single inhalation exposure threshold limit value was set at 300 mg/m³, based on the results of monitoring of the functional state of the central nervous system and myocardium and hematological parameters.

Thirty-day subacute experiments (oral administration, inhalation exposure, and skin applications) revealed no accumulation of the compound.

Four-month chronic exposure to DOTP aerosols (concentration 96,8 mg/m³) caused disorder of the functional state of the central nervous system and myocardium, changes in the hematological and biochemical parameters, gas and acid-base status of the blood, and morphological changes in the lungs and heart. Embryotoxic, genotoxic and gonadotoxic effects were not detected.

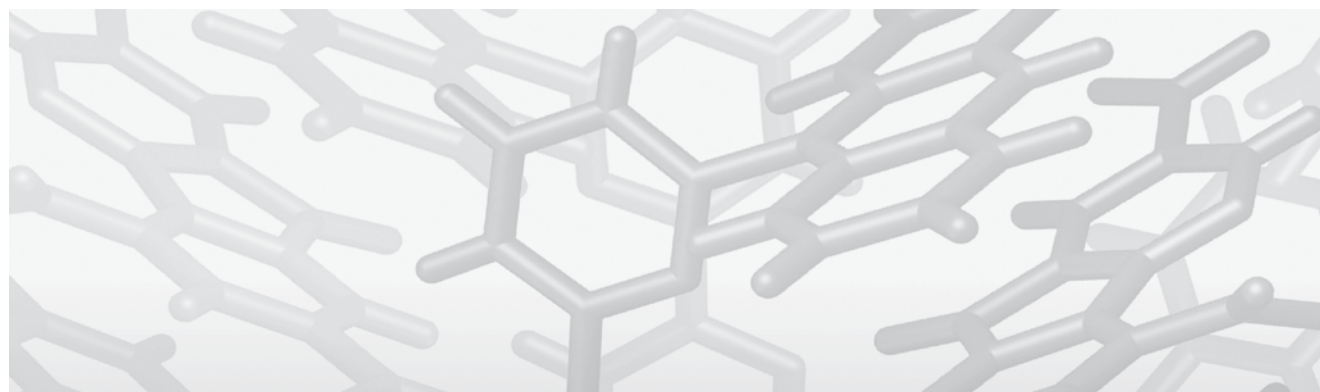
The chronic inhalation exposure threshold limit value for DOTP (Limch) was set at 18,6 mg/m³, and the concentration of 3,4 mg/m³ was found to be ineffective.

The maximum allowable concentration of DOTP in the air of the working area was set at 3,0 mg/m³, hazard class 3.

Keywords: dioctyl terephthalate, toxicity, hazard, regulatory standard.

Quote: A.S. Radilov, S.A. Solntseva, I.E. Shkaeva, S.A. Dulov, E.V. Vivulanets, G.A. Protasova, L.V. Shabasheva, O.S. Nikulina. Experimental substantiation of the maximum allowable concentration of dioctyl terephthalate in the air of the working area. Toxicological Review. 2020; 1: 34-38

Материал поступил в редакцию 20.05.2019 г.



ОБОСНОВАНИЕ МАКСИМАЛЬНЫХ РАЗОВЫХ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ 1-МЕТИЛ-4- ИЗОПРОПЕНИЛЦИКЛОГЕКСЕНА-1 (ЛИМОНЕН), 3,7,7-ТРИМЕТИЛБИЦИКЛО[4.1.0] ГЕПТ-2-ЕНА (3-КАРЕН) И 2,2-ДИМЕТИЛ-3- МЕТИЛЕНБИЦИКЛО[2.2.1] ГЕПТАНА (КАМФЕН) В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ

О.В. Бударина,
Л.А. Федотова,
З.В. Шипулина,
Т.Д. Потапченко

Федеральное
государственное
бюджетное учреждение
«Центр стратегического
планирования и
управления медико-
биологическими
рисками здоровью»
(ФГБУ «ЦСП» Минздрава
России) Министерства
Здравоохранения
Российской Федерации,
119121, г. Москва,
Российская Федерация

В настоящей работе представлены результаты экспериментальных исследований по обоснованию максимальных разовых предельно допустимых концентраций (ПДК_{м.р.}) 1-метил-4-изопропенилциклогексена-1 (лимонен); 3,7,7-триметилбицикло[4.1.0]гепт-2-ена (3-карен); 2,2-диметил-3-метиленилбицикло[2.2.1]гептана (камфен) в атмосферном воздухе городских и сельских поселений. Исследования выполнены в соответствии с ныне действующей методологией определения порогов запаха веществ с использованием современного ольфактометрического оборудования (динамического ольфактометра) и высокочувствительных методов идентификации химических компонентов (хромато-масс-спектрометрии). Согласно полученным результатам, в качестве гигиенических нормативов в атмосферном воздухе населенных мест были рекомендованы максимальные разовые ПДК: лимонен – 0,08 мг/м³ (класс опасности 4); 3-карен – 0,2 мг/м³ (класс опасности 4); камфен – 0,3 мг/м³ (класс опасности 3); лимитирующий показатель вредности для всех веществ – рефлексорный. Для контроля содержания указанных веществ разработана методика измерений массовой концентрации α-пинена, β-пинена, камфена, 3-карена, лимонена в атмосферном воздухе методом хромато-масс-спектрометрии, которая аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-2009 и ГОСТ Р ИСО 5725-2002.

Ключевые слова: максимальная разовая предельно допустимая концентрация, лимонен, камфен, 3-карен, порог запаха, ольфакто-одориметрические исследования.

Цит.: О.В. Бударина, Л.А. Федотова, З.В. Шипулина, Т.Д. Потапченко. Обоснование максимальных разовых предельно допустимых концентраций 1-метил-4-изопропенилциклогексена-1 (лимонен), 3,7,7-триметилбицикло[4.1.0]гепт-2-ена (3-карен) и 2,2-диметил-3-метиленилбицикло[2.2.1]гептана (камфен) в атмосферном воздухе. Токсикологический вестник. 2020; 1: 39-44.

Бударина Ольга Викторовна (Budarina Olga Viktorovna), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела гигиены окружающей среды ФГБУ «ЦСП» Минздрава России, vozduch2002@mail.ru

Федотова Лионелла Айдиновна (Fedotova Lionella Aidinovna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела гигиены окружающей среды ФГБУ «ЦСП» Минздрава России; fedotov2003@mail.ru

Шипулина Зинаида Викторовна (Shipulina Zinaida Viktorovna), научный сотрудник отдела гигиены окружающей среды ФГБУ «ЦСП» Минздрава России, vozduch2002@mail.ru

Потапченко Тимур Дмитриевич (Potapchenko Timur Dmitrievich), младший научный сотрудник отдела гигиены окружающей среды ФГБУ «ЦСП» Минздрава России, timurpotapchenko@mail.ru

Введение. Вещества 1-метил-4-изопропенилциклогексен-1 (далее – лимонен), 3,7,7-триметилбицикло[4.1.0]гепт-2-ен (далее – 3-карен), 2,2-диметил-3-метиленибицикло[2.2.1]гептан (далее – камфен) относятся к группе терпенов. Содержатся во многих эфирных маслах и в скипидаре, применяются в химической промышленности, для получения душистых веществ и ароматизаторов, инсектицидов, акрилатов, терпенфеноловых смол, как растворители лаков и др.

Лимонен – химическое название по IUPAC 1-метил-4-изопропенилциклогексен-1; синонимы: 1,8-п-ментadiен; $C_{10}H_{16}$; CAS: 138-86-3, хорошо растворим в этаноле, неполярных органических растворителях, не растворяется в пропиленгликоле, глицерине, воде.

3-карен – химическое название по IUPAC 3,7,7-триметилбицикло[4,1,0]гепт-3-ен; синонимы: изодипрен, 4,7,7-Триметил-3-норкарен; Δ (sup 3)-карен; $C_{10}H_{16}$; CAS: 13466-78-9. Растворим в органических растворителях, слабо растворим в этаноле, нерастворим в воде.

Камфен – химическое название по IUPAC 2,2-диметил-3-метиленибицикло[2,2,1]гептан; синонимы: (2,2-диметил-3-метиленинорборнан); $C_{10}H_{16}$; CAS: 79-92-5. Хорошо растворим в диэтиловом эфире и бензоле, хуже в этаноле, нерастворим в воде.

До настоящего времени для лимонена гигиенические нормативы в атмосферном воздухе отсутствовали. Согласно ГН 2.1.6.2309-07, для 2-х соединений (3-карен и камфен) ранее были разработаны и утверждены ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ): для 3-карена – 0,2 мг/м³; для камфена – 2,4 мг/м³ [1]. Анализ материалов секции «Гигиена атмосферного воздуха» [2-4] показал, что на сегодняшний день имеются все основания ставить вопрос о пересмотре этих нормативов. Отметим, что критерием нормирования 3-карена являлся порог определения запаха в воде. ОБУВ камфена (2,4 мг/м³) был установлен в ольфактометрических исследованиях в 1988 г., при этом неизвестно, как определялась концентрация вещества в эксперименте, но можно полагать, что это был неспецифический метод с низкой чувствительностью [3].

Усовершенствование методики ольфактометрических исследований с установлением вероятностных порогов ощущения запаха в атмосферном воздухе, наличие современного ольфактометрического оборудования и чувствительных методов определения веществ обуславливает не только пересмотр ныне действующих нормативов, но и перевод их в ранг предельно допустимых концентраций. Следует отметить, что в связи с разработкой и утверждением в настоящее время ПДКм.р. летучих органических соединений, образующихся при высокотемператур-

ной обработке древесины производства ДСП (по терпеновым углеводородам) на уровне 0,05 мг/м³, разработана хромато-масс-спектрометрическая методика измерений массовой концентрации α -пинена, β -пинена, камфена, 3-карена, лимонена и расчета их суммарной массовой концентрации в атмосферном воздухе [5]. Указанный норматив обоснован для выбросов, в которых, помимо терпеновых углеводородов, содержится большое количество других пахучих органических веществ (до 100 наименований и более), образующих смесь, которая может изменять характеристику запаха отдельных веществ, в частности, рассматриваемых терпенов. Поэтому, для камфена, 3-карена и лимонена должны быть разработаны индивидуальные гигиенические нормативы, особенно учитывая то, что они являются весьма распространенными в атмосферном воздухе, часто присутствуют в выбросах различных производств (пищевой, косметической и других отраслей промышленности), а также могут быть природно-обусловленными.

Результаты проведенных ранее исследований [2, 4] показали, что терпеновые углеводороды по параметрам острой токсичности относятся к малоопасным веществам (4 класс опасности), обладающими умеренно выраженным раздражающим действием на слизистые оболочки. При этом, согласно литературным данным [6], признаки раздражения верхних дыхательных путей, выявленные, в частности, у работающих с эфирными маслами, возникают при концентрациях, которые на несколько порядков больше концентраций, вызывающих изменения со стороны обонятельного анализатора. Поэтому гигиенические нормативы в атмосферном воздухе рассматриваемых веществ должны быть установлены прежде всего на основе ольфакторного действия.

Целью нашей работы явилось обоснование максимальных разовых предельно допустимых концентраций лимонена, 3-карена и камфена в атмосферном воздухе городских и сельских поселений.

Материалы и методы исследования. Проведение экспериментальных ольфакто-одориметрических исследований лимонена, 3-карена и камфена осуществлялось в соответствии с [7-12] на динамическом ольфактометре ЕСОМА Т08 (Германия).

Принцип работы ольфактометра ЕСОМА Т08 заключается в том, что вещество из специально наложенного мешка, подсоединенного к ольфактометру, с помощью системы разбавления пробы чистым воздухом, поступает к нюхательному порту для оценки испытуемыми. В соответствии с Европейским стандартом EN 13725 [11], во избежание адаптации испытуемых к запаху в процессе ольфакто-одориметрических исследова-

дований, эксперимент начинается с неощутимых концентраций, что достигается путем первоначального максимального разбавления исследуемой пробы. Каждое последующее 2-х кратное повышение концентраций обеспечивается прецизионным автоматическим 2-кратным увеличением разведения очередной порции исследуемой пробы. Динамический ольфактометр обеспечивает возможность разведения пробы от 64 тысяч до 2-х раз.

Программа измерений включает 3 раунда, каждый из которых состоит из 3-х последовательных предъявлений серий концентраций (продолжительность каждой серии 2 – 2,5 мин., интервал между сериями – не менее 15 мин.), интервалы между раундами составляют от 60 до 120 минут. Вся программа контролируется компьютером и выполняется автоматически. Возможность проведения процедуры одновременно для нескольких испытуемых позволяет свести к минимуму продолжительность последовательных измерений. Для разведения образцов с исследуемым веществом использован сжатый воздух из безмасляного компрессора после фильтрации, охлаждения, высушивания и очищения активированным углем.

Как принято в зарубежной практике, в исследованиях участвуют лица, ольфакторная чувствительность которых отличается большим постоянством и меньшей вариабельностью, чем чувствительность всего населения. С целью отбора этих испытуемых были проведены ольфактометрические исследования с эталонным веществом (н-бутанолом, CAS: 71-36-3) с высокой степенью очистки (99,9%). В результате эксперимента была сформирована группа в количестве 8-ми человек, отвечающих критериям отбора в соответствии с EN 13725.

Для оценки ольфакторного действия были взяты следующие вещества: камфен (содержание основного вещества – 95%), 3-карен (содержание основного вещества – 90%), лимонен (содержание основного вещества – 97%).

Каждое вещество, кроме камфена, микрошприцем было введено в заполненный чистым воздухом мешок из налофана в количестве 6-10 мкл и проанализировано с помощью хрома-

то-масс-спектрометрического метода. Камфен (твердое вещество), после взвешивания (92,7 мг), также был помещен в мешок из налофана и, по истечении времени возгонки и образования газовой смеси, проанализирован. Химико-аналитические исследования по количественному определению терпеновых соединений, содержащихся в воздушной среде мешка, выполнены в лаборатории физико-химических исследований ФГБУ «ЦСП» Минздрава. Анализ проведен с использованием метрологически аттестованного оборудования: хромато-масс-спектрометра Focus GC с DSQ II (США).

В ходе эксперимента каждому испытуемому несколько раз предъявлялась серия из 8-10 концентраций (разведений) исследуемых веществ. С каждым ощущением запаха испытуемыми должна быть нажата кнопка «да, есть запах», при этом одновременно ими велась запись об интенсивности ощущаемого запаха. Предъявление концентраций испытуемым сочеталось с предъявлениями чистого воздуха в соответствии с заложенной программой подач разведений (в каждой серии концентраций было 2 предъявления чистого воздуха). В конце каждого раунда испытуемые делали запись о характере запаха. Общее количество ольфакто-одориметрических определений составило 1533. Статистический анализ данных проводили с помощью компьютерной программы Probit Analysis (v.4.0).

Результаты и обсуждение. Результаты инструментального определения терпеновых соединений в воздушной среде мешков показаны в таблице 1.

Перед проведением ольфакто-одориметрических исследований вся группа испытуемых была ознакомлена с запахом вышеперечисленных веществ; при этом испытуемые охарактеризовали его как смолистый, хвойный (3-карен); запах мастики, эфирный (камфен); запах лайма-лимона (лимонен).

По результатам ольфакто-одориметрических исследований терпеновых соединений проведен анализ зависимости вероятности ощущения запаха указанных веществ от их концентрации в воздухе (табл. 2-4)

Аналитическая обработка данных эксперимен-

Таблица 1

Концентрация терпеновых соединений в воздушной среде мешков

Терпен	Площадь пика, бке · 10 ⁶	Масса терпена в пробе, мкг	Объем пробы, мл Приготовленная	Концентрация, мг/м ³		(Срассчет/Спригот)
				Рассчитан по калибровке		
камфен	31943	5,15	40	8807	129	1,5
3-карен	27681	4,46	30	999	149	14,9
лимонен	25208	4,07	30	1077	136	12,6

Таблица 2

Зависимость вероятности ощущения запаха лимонена от его концентрации в воздухе

Концентрация лимонена, мг/м ³	Сумма предъявлений	Число положительных ответов	Процент положительных ответов
0,07	27	1	3,7%
0,13	27	6	22,2%
0,26	27	17	62,9%
0,53	27	20	74,1%
1,06	27	27	100%
2,13	27	26	96,3%
4,25	27	27	100%
8,5	27	27	100%
17,0	27	27	100%

Таблица 3

Зависимость вероятности ощущения запаха камфена от его концентрации в воздухе

Концентрация камфена, мг/м ³	Сумма предъявлений	Число положительных ответов	Процент положительных ответов
0,5	27	4	14,8%
1,0	27	12	44,4%
2,0	27	24	88,8%
4,0	27	27	100%
8,1	27	27	100%
16,1	27	27	100%

Таблица 4

Зависимость вероятности ощущения запаха 3-карена от его концентрации в воздухе

Концентрация 3-карена, мг/м ³	Сумма предъявлений	Число положительных ответов	Процент положительных ответов
0,3	27	3	11,1%
0,6	27	10	37,0%
1,2	27	24	88,8%
2,3	27	26	96,3%
4,7	27	27	100%
9,3	27	27	100%
18,6	27	27	100%

та показала, что зависимости вероятности ощущения запаха изученных веществ от их концентрации описываются формулами:

$$y = 1,3747 + 2,370 * x \text{ (лимонен);}$$

$$y = 0,6604 + 3,764 * x \text{ (3-карен);}$$

$$y = -0,0136 + 3,747 * x \text{ (камфен),}$$

где: x – \lg концентрации, мг/м^3 ,

y – эффект в пробитах.

Вычисленный 16%-ный вероятностный порог ощущения запаха (ЕС16) на основе вышеприведенных формул составил $0,12 \text{ мг/м}^3$ (лимонен); $0,363 \text{ мг/м}^3$ (3-карен); $0,547 \text{ мг/м}^3$ (камфен).

Согласно [10], в соответствии с 16%-ным порогом ощущения запаха и коэффициентом запаса, равным 2 (3-карен и камфен) и 1,5 (лимонен), максимальные разовые ПДК составили: лимонен – $0,08 \text{ мг/м}^3$ (класс опасности 4); 3-карен – $0,2 \text{ мг/м}^3$ (класс опасности 4); камфен – $0,3 \text{ мг/м}^3$ (класс опасности 3); лимитирующий показатель вредности для всех веществ – рефлекторный.

Полученные результаты продемонстрировали, что гигиенические нормативы для индивидуальных веществ, установленные по порогам их запаха, могут существенно отличаться от порогов ощущения запаха этих же веществ, находящихся в составе сложной смеси. Так, ПДК м.р. летучих органических соединений, образующихся при высокотемпературной обработке древесины производства ДСП, установлена на уровне $0,05 \text{ мг/м}^3$, причем по сумме приоритетных веществ – рассматриваемых в данной работе терпенов, а также α - и β -пиненов. При этом индивидуальные ПДК для этих веществ находятся на более высоком уровне $0,2 - 0,6 \text{ мг/м}^3$ [13], и только для самого пахучего вещества – лимонена – на уровне сотых ($0,08$) мг/м^3 . По всей вероятности, эту разницу можно объяснить комбинированным действием веществ в многокомпонентной смеси, характер которого неизвестен.

Проведенные исследования также показали, что разработанная ПДК на 3-карен ($0,2 \text{ мг/м}^3$) со-

ответствует нормативу (ОБУВ), установленному ранее по порогу запаха в воде [2], однако новый норматив на камфен ($0,3 \text{ мг/м}^3$) существенно отличается от разработанного в 1988 г. [4], где, по-видимому, использовался неспецифический метод определения веществ с низкой чувствительностью.

Заключение. В соответствии с вышеизложенным, в качестве гигиенических нормативов в атмосферном воздухе городских и сельских поселений были рекомендованы максимальные разовые ПДК: лимонен – $0,08 \text{ мг/м}^3$ (класс опасности 4); 3-карен – $0,2 \text{ мг/м}^3$ (класс опасности 4); камфен – $0,3 \text{ мг/м}^3$ (класс опасности 3); лимитирующий показатель вредности для всех веществ – рефлекторный.

Максимальные разовые ПДК камфена, 3-карена и лимонена в атмосферном воздухе утверждены Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 31.05.2018 № 37 «Изменения в гигиенические нормативы ГН 2.1.6.3492-17 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений» [14].

Для контроля содержания камфена, 3-карена и лимонена разработана методика измерений массовой концентрации α -пинена, β -пинена, камфена, 3-карена, лимонена и расчета их суммарной массовой концентрации при определении содержания летучих органических соединений, образующихся при высокотемпературной обработке древесины производства ДСП, в атмосферном воздухе методом хромато-масс-спектрометрии, которая аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-2009 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений», ГОСТ Р ИСО 5725-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений» №205-31/ RA.RU.311787-2016/2016 от 02.09.2016г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ГН 2.1.6.2309-07 Атмосферный воздух и воздух закрытых помещений, санитарная охрана воздуха. Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. Гигиенические нормативы (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 19.12.2007 №92) (ред. от 21.10.2016).
2. Материалы по обоснованию ОБУВ приоритетных летучих компонентов пыли табачного производства (альфа-пинена; 3-карена; соланона; оксизофорона; салицилальдегида). НИИЗЧИГОС им.А.Н.Сысина РАМН – Архив секции «Гигиена атмосферного воздуха». – Рукопись. М.; 2006.
3. Материалы по обоснованию ПДК скипидара в атмосферном воздухе. НИИОиКГ им.А.Н.Сысина АМН СССР – Архив секции «Гигиена атмосферного воздуха». – Рукопись. М.; 1978.
4. Материалы по обоснованию ориентировочного безопасного уровня воздействия камфена в атмосферном воздухе. НИИОиКГ им.А.Н.Сысина АМН СССР – Архив секции «Гигиена атмосферного воздуха». – Рукопись. М.; 1988.
5. Бударина О.В., Пинигин М.А., Федотова Л.А., Сабирова З.Ф., Шипулина З.В. Обоснование максимальной разовой предельно допустимой концентрации летучих органических соединений, образующихся при высокотемпературной обработке древесины производства ДСП, в атмосферном воздухе населенных мест. Токсикологический вестник. 2017; 6: 42-7.
6. Вредные органические вещества. Природные органические соединения: издание справочно-энциклопедического типа. Т.7 / ред. В.А. Филов, Ю.И. Мусийчук, В.А. Ивин. – СПб.: Изд-во СПбХФА: НПО Мир и Семья-95, 1998.
7. Теликина Л.А. К методике вероятностной оценки порога обонятельного ощущения. В кн.: Гигиенические аспекты охраны окружающей среды. М., ИОКГ им. А.Н.Сысина. 1974; 2: 45-7.
8. Андреева Н.Г., Пинигин М.А. Обоснование максимально разовых ПДК атмосферных загрязнителей по их вероятностным порогам запаха, классам опасности и коэффициентам запаса. В сб.: Гигиенические аспекты охраны окружающей среды. М., ИОКГ им.А.Н.Сысина. 1978; 6: 75-6.
9. Бударина О.В., Пинигин М.А., Федотова Л.А., Сабирова З.Ф., Потапенко Т.Д. Современные методические подходы к экспериментальному обоснованию допустимого содержания в атмосферном воздухе веществ, обладающих запахом. Токсикологический вестник. 2017; 4: 34-9.
10. Временные методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест, №4681-88, МЗ СССР, М., 1989.
11. Европейский стандарт «CEN (2003). Air quality – Determination of odour concentration by dynamic olfactometry. EN 13725:2003», European committee for standardisation.
12. Маннебек Д. Определение уровня запаха. Ольфактометрическое оборудование. В сб. докладов международной конференции «Актуальные вопросы оценки и регулирования запаха».

ЗАО «Лиггетт-Дукат». 4 октября 2006г. Москва. 124-145.

13. Бударина О.В., Федотова Л.А., Шипулина З.В., Потапченко Т.Д. Токсичность 4,6,6-триметилбicyclo[3.1.1]

гепт-3-ен (α -пинен) и 6,6-диметил-2-метилбicyclo[3.1.1]гептан (β -пинен). Токсикологический вестник. 2018; 5(152): 49-52.

14. Постановление Главного

государственного санитарного врача Российской Федерации от 31.05.2018 №37 «Изменения в гигиенические нормативы ГН 2.1.6.3492-17 «Предельно допустимые концентрации (ПДК)

загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений». Available at: <https://www.law.ru/npd/doc/docid/550415449/modid/99>.

REFERENCES:

- Hygiene norms GN 2.1.6.2309-07 Atmospheric air and air of the closed rooms, sanitary protection of air. Tentative Safe Exposure Levels (TSEL) of pollutants in the atmospheric air of populated areas. Hygienic standards (Resolution of the Chief state sanitary doctor of the Russian Federation of 19.12.2007 No. 92) (ed. of 21.10.2016) (in Russian).
- Materials on justification of TSEL of priority volatile components of tobacco production dust (α -pinene; 3-carene; solanone; oxoisoprene; salicylaldehyde). NIEChiGOS im.A.N.Sysina RAMN – Archive of the Section «Air hygiene». – Manuscript. M.; 2006 (in Russian).
- Materials on justification of MPC of turpentine in atmospheric air. NIOIKG im.A.N.Sysina AMN SSSR – Archive of the Section «Air hygiene». – Manuscript. M.; 1978 (in Russian).
- Materials on justification of tentative safe exposure levels of camphene exposure in atmospheric air. NIOIKG im.A.N.Sysina AMN SSSR – Archive of the Section «Air hygiene». – Manuscript. M.; 1988 (in Russian).
- Budarina O.V., Pinigin M.A., Fedotova L.A., Sabirova Z.F., Shipulina Z.V. Substantiation of the maximum one-time permissible concentration of volatile organic compounds formed during high-temperature processing of wood production in the atmospheric air of settlements. Toxicological Review. 2017; 6: 42-7 (in Russian).
- Harmful organic substances. Natural organic compounds: publication of reference and encyclopedic type. T.7 / red. V.A. Filov, Yu.I. Musijchuk, V.A. Ivin. – Spb.: Izd-vo SPHFA: NPO Mir i Sem'ya-95, 1998 (in Russian).
- Tepikina L.A. On the method of probabilistic estimation of olfactory sensation threshold. Hygienic aspects of environmental protection. M., IOKG im. A.N.Sysina; 1974; 2: 45-7 (in Russian).
- Andreeshcheva N.G., Pinigin M.A. Justification of the maximum single MPC of atmospheric pollutants by their probabilistic thresholds of smell, hazard classes and safety factors. Hygienic aspects of environmental protection. M., IOKG im.A.N.Sysina, 1978; 6: 75-6 (in Russian).
- Budarina O.V., Pinigin M.A., Fedotova L.A., Sabirova Z.F., Potapchenko T.D. Modern methodological approaches to the experimental justification of the permissible content of substances with odor in the atmospheric air. Toxicological Review. 2017; 4: 34-9 (in Russian).
- Temporary guidelines for justification of maximum permissible concentrations (MPC) of pollutants in the air of populated areas. №4681-88, MZ USSR, M., 1989 (in Russian).
- European standard «CEN (2003). Air quality – Determination of odour concentration by dynamic olfactometry. EN 13725:2003», European committee for standardisation.
- Mannebek D. Determination of the level of smell. Olfactometric equipment. Collection of reports of the international conference "Current issues of smell assessment and regulation". M.: Liggett-Ducat, 2006, Pp. 124-145 (in Russian).
- Budarina O.V., Fedotova L.A., Shipulina Z.V., Potapchenko T.D. Toxicity of 4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene (α -pinene) and 6,6-dimethyl-2-methylbicyclo[3.1.1]heptane (β -pinene). Toxicological Review. 2018; 5(152): 49-52 (in Russian).
- Resolution of the Chief state sanitary doctor of the Russian Federation of 31.05.2018 No. 37 "Changes in hygienic standards GN 2.1.6.3492-17 "Maximum permissible concentrations (MPC) of pollutants in the atmospheric air of urban and rural settlements". Available at: <https://www.law.ru/npd/doc/docid/550415449/modid/99>.

O.V. Budarina, L.A. Fedotova, Z.V. Shipulina, T.D. Potapchenko

JUSTIFICATION OF MAXIMUM SINGLE ALLOWABLE CONCENTRATIONS OF 1-METHYL-4-ISOPROPENYLCYCLOHEX-1-ENE (LIMONENE), 3,7,7-TRIMETHYLBICYCLO[4.1.0]HEPT-2-ENE (3-CARENE) AND 2,2-DIMETHYL-3-METHYLENEBICYCLO[2.2.1]HEPTANE (CAMPHENE) IN AMBIENT AIR

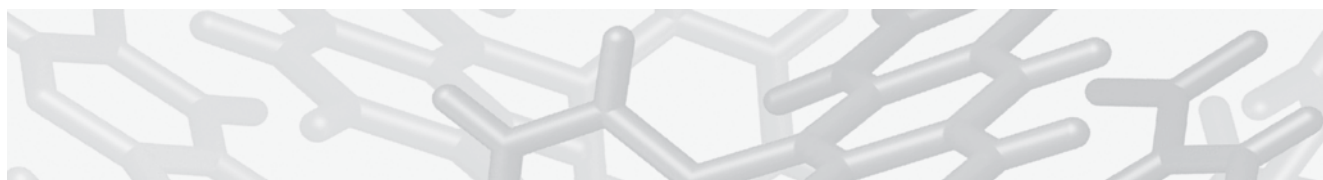
Centre for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks, Ministry of Health of the Russian Federation, 119121, Moscow, Russian Federation

This paper presents the results of the experimental studies on justification of the maximum single allowable concentrations (MAC) of 1-methyl-4-isopropenylcyclohex-1-ene (limonene), 3,7,7-trimethylbicyclo[4.1.0]hept-2-ene (3-carene), and 2,2-dimethyl-3-methylenebicyclo[2.2.1]heptane (camphene) in the air of urban and rural settlements. The research has been carried out in accordance with the current methodology for determining the odor thresholds of substances using modern olfactometric equipment (dynamic olfactometer) and highly sensitive methods for identifying chemical components (chromatography-mass spectrometry). According to the results obtained, the recommended maximum single allowable concentrations in the atmospheric air of urban and rural settlements are 0,08 mg/m³ (hazard class 4) for limonene; 0,2 mg/m³ (hazard class 4) for 3-carene; 0,3 mg/m³ (hazard class 3) for camphene; the limiting indicator of harmfulness for all substances is reflex. An analytical method based on chromatography-mass spectrometry and certified in accordance with GOST R 8.563-2009 and GOST R ISO 5725-2002 has been developed to control the concentrations of α -pinene, β -pinene, camphene, 3-carene, and limonene in the atmospheric air of urban and rural settlements.

Keywords: maximum single allowable concentration, limonene, camphene, 3-carene, odor threshold, olfactometric studies.

Quote: O.V. Budarina, L.A. Fedotova, Z.V. Shipulina, T.D. Potapchenko. Justification of maximum single allowable concentrations of 1-methyl-4-isopropenylcyclohex-1-ene (limonene), 3,7,7-trimethylbicyclo[4.1.0]hept-2-ene (3-carene) and 2,2-dimethyl-3-methylenebicyclo[2.2.1]heptane (camphene) in ambient air. Toxicological Review. 2020; 1: 39-44.

Переработанный материал поступил в редакцию 27.11.2019 г.



КОНКУРС НАУЧНЫХ РАБОТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ

УДК 546.46:613.63

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-1-45-48

ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ ТОКСИЧНОСТИ НАНОДИСПЕРСНОГО ОКСИДА МАГНИЯ ПРИ МНОГОКРАТНОМ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

М.С. Степанков

ФБУН ФНЦ
медико-профилактических
технологий управления
рисками здоровью
населения, 614045,
г. Пермь, Российская
Федерация

Проведена многократная ингаляционная экспозиция крыс линии Wistar аэрозолем водной суспензии нанодисперсного оксида магния (5-100 нм) в фактической концентрации $0,485 \pm 0,121$ мг/м³. Установлено достоверное увеличение активности аланинаминотрансферазы, количества лейкоцитов и тромбоцитов, тромбокрита. Отмечено достоверное снижение палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов. У животных опытной группы установлено острое полнокровие в тканях головного мозга, сердца, лёгких, печени, поджелудочной железы и почках. Установлены субарахноидальные кровоизлияния в головном мозге; геморрагические инфаркты и гиперплазия ткани лёгких; гиперплазия миелоидного ростка кроветворения костного мозга и лимфоидной ткани тонкого кишечника; эозинофилия инфильтрата в желудке и толстом кишечнике. Полученные результаты позволяют повысить эффективность обоснования мер профилактики для работающих и населения, подвергающихся ингаляционной экспозиции наноразмерных частиц оксида магния.

Ключевые слова: наночастицы, оксид магния, ингаляция, показатели крови, патоморфологические изменения.

Цит.: М.С. Степанков. Исследование и оценка параметров токсичности нанодисперсного оксида магния при многократном ингаляционном воздействии. Токсикологический вестник. 2020; 1: 45-48.

Введение. Наноматериалы обладают рядом преимуществ относительно материалов большей размерности. В связи с этим идёт активное внедрение наноматериалов и нанотехнологий в различные сферы деятельности человека [1].

Одним из наноматериалов, получившим широкое распространение, являются наночастицы оксида магния (MgO). Данный продукт используется в пищевой промышленности – в качестве компонента упаковки пищевых продуктов [2, 3] и для создания на них защитной плёнки, предотвращающей порчу от влажности и окисления [4]; медицине – в диагностических приборах, в системе доставки лекарств; фармакологии – в качестве антимикробного компонента в мазях; химической промышленности – как компонент катали-

заторов, красок, топливных присадок; металлургии – в составе ингибиторов коррозии, сплавов, электроизоляционного материала; электронике – в составе сверхпроводников, оптоволокон, электродных стержней и листов, высокочастотных магнитно-стержневых антенн [5]. Ожидается, что мировой спрос на наночастицы MgO к 2020 году составит 185,5 тонн [6].

Исследованиями *in vitro* и *in vivo* установлено, что наночастицы MgO способны генерировать активные формы кислорода [7], вызывать летальные изменения в клетках [8], накапливаться в различных органах, приводя к патологическим изменениям [9], влиять на протеомный и метаболомный профили [10]. Обладают такими отдалёнными и специфическими эффектами

токсичности, как генотоксичность [8, 9], эмбриотоксичность [11] и аллергенность [12].

Принимая во внимание объём производства, спектр применения и имеющиеся данные о токсичности наночастиц MgO, приобретают актуальность исследования, направленные на детальное изучение действия данного наноматериала на организм человека при различных путях поступления.

Целью данной работы является исследование и оценка параметров токсичности нанодисперсного MgO при многократном ингаляционном воздействии.

Материалы и методы исследования. Для проведения экспериментальных исследований использовали порошок нанодисперсного MgO (Magnesium oxide, CAS 1309-48-4, № продукта 549649) производства Sigma-Aldrich (США). Оценка размера частиц тестируемого материала выполнена методом электронной микроскопии на сканирующем микроскопе высокого разрешения S-3400N (НИТАСНИ, Япония). Исследование и оценка удельной площади поверхности частиц выполнена по методу Брунауэра, Эммета и Тейлора на приборе ASAP 2020 (Micromeritics, США) после дегазации в вакууме при температуре 350 °С в течение 3 часов.

Исследование и оценка токсичности нанодисперсного MgO выполнены на белых крысах линии Wistar массой 250-300 г в количестве 10 особей. Животные распределены на 2 группы случайным образом по 5 особей: опытная группа – животные, получавшие многократно ингаляционно аэрозоль водной суспензии нанодисперсного MgO, контрольная группа – животные, не подвергавшиеся ингаляционному воздействию исследуемого вещества. Моделирование ингаляционного поступления вещества в организм осуществляли в ингаляционной системе с интегрированным программным обеспечением с использованием камеры для всего тела (TSE Systems GmbH, Германия). Для генерирования аэрозоля использовали водную суспензию нанодисперсного MgO в концентрации 25 мг/см³. Характеристика воздушных потоков в камере: приток воздуха – 10 дм³/мин; скорость подачи водной суспензии вещества – 0,4 см³/мин; отток воздуха – 10 дм³/мин; колебания давления внутри камеры – 0,4 мбар; температура в камере – 22-25 °С. Пробы воздуха из камеры для определения концентрации тестируемого вещества отбирали ежедневно на фильтры АФА-ХП-10-1 на протяжении всей экспозиции со скоростью подачи 2 дм³/мин. Фактическая концентрация нанодисперсного MgO в воздухе ингаляционной камеры в течение всего эксперимента в среднем составила 0,485±0,121 мг/м³. Экспозицию проводили ежедневно по 4 часа в течение 10 дней. На период

экспозиции животные корм не получали. После окончания последней экспозиции у экспериментальных животных отбирали образцы крови из хвостовой вены в объёме 3 см³. Биохимическое исследование крови проводили с помощью полуавтоматического биохимического анализатора Humalyzer 2000 (Human GmbH, ФРГ) (определение количества лактатдегидрогеназы и С-реактивного белка) и биохимического анализатора Keylab (BPC BioSed, Италия) (определение уровня аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, амилазы, общего и прямого билирубина, гамма-глутамилтрансферазы, креатинина, мочевины, щелочной фосфатазы). Исследование гематологических показателей крови (количество лейкоцитов, тромбоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, лимфоцитов, эритроцитов, уровень гемоглобина, гематокрита, тромбокрит, средний объём эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитарной массе, индекс распределения эритроцитов, средний объём тромбоцитов) – с помощью автоматического анализатора Coulter Ac*Т 5diff AL (Beckman Culter, США).

Для изучения морфологических изменений органов и тканей экспериментальных животных отбирали висцеральные органы (сердце, лёгкие, селезенку, печень, почки, желудок, поджелудочную железу, тонкий и толстый кишечник), мозг и отрезок бедренной кости методом полной эвисцерации по Шору. Извлечение головного мозга выполняли специализированным инструментом. Отобранный материал фиксировали в 10%-ном растворе забуференного нейтрального формалина. Дегидратацию фиксированных кусочков тканей проводили в автоматическом гистологическом процессоре «Excelsior ES» (Thermo Scientific, Германия). Гистологические препараты изготавливали из парафиновых срезов толщиной 3-4 микрона, окрашивая по общепринятой методике гематоксилином и эозином в работе-окрашивателе «Varistain Gemini ES» (Thermo Scientific, Германия). Полученные микропрепараты исследовали на светооптическом микроскопе Axio Lab A1 (Carl Zeiss, Германия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel. Сравнение полученных величин производили с помощью двустороннего t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. По результатам сканирующей электронной микроскопии установлено, что исследуемый материал содержит преимущественно частицы размером 5-100 нм (71,9% от общего количества частиц) (рис. 1). Удельная

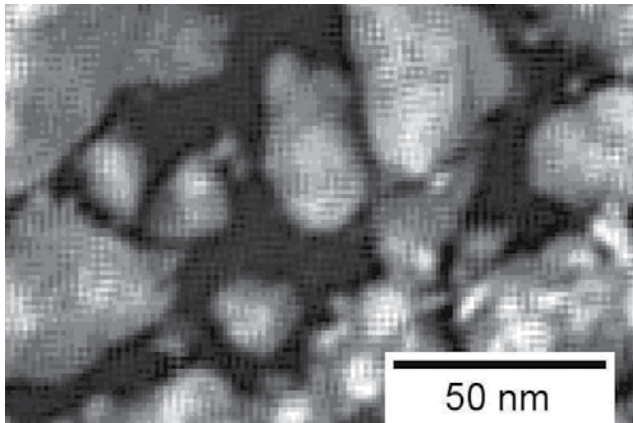


Рис. 1. Изображение наночастиц MgO с помощью сканирующей электронной микроскопии

площадь поверхности наночастиц MgO составила $64,51 \text{ м}^2/\text{г}$.

Оценка результатов исследования биохимических показателей крови на 10-й день эксперимента позволила установить у крыс опытной группы достоверное увеличение уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови в 1,42 раза ($p=0,011$) относительно аналогичных показателей у животных контрольной группы.

Гематологическим исследованием установлено достоверное увеличение количества лейкоцитов в 4,73 раза ($p=0,0002$), тромбоцитов в 4,71 раза ($p=0,0001$) и тромбокрита в 5,12 раза ($p=0,0001$), достоверное снижение содержания палочкоядерных нейтрофилов в 1,50 раза ($p=0,042$) и моноцитов в 1,70 раза ($p=0,0014$) относительно данных показателей у животных контрольной группы.

Известно, что центральная нервная система является системой-мишенью при ингаляционном

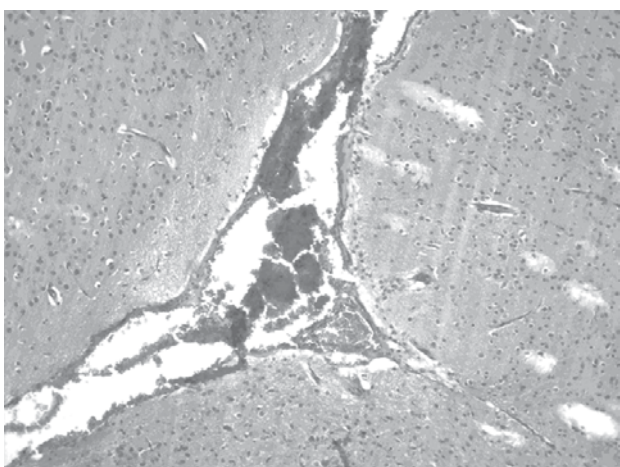


Рис. 2. Головной мозг крысы после многократного ингаляционного поступления нанодисперсного MgO в концентрации $0,485 \pm 0,121 \text{ мг}/\text{м}^3$, окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

действию MgO. Гистологическим исследованием у животных опытной группы установлено острое полнокровие и субарахноидальные кровоизлияния в тканях головного мозга, чего не отмечено у животных контрольной группы (рис. 2).

Кроме того, у животных опытной группы отмечены следующие патоморфологические изменения, не установленные у животных контрольной группы: острое полнокровие в тканях сердца, лёгких, печени, поджелудочной железы и почках; геморрагические инфаркты и гиперплазия лимфоидной ткани лёгких, эозинофилия инфильтрата в желудке, гиперплазия миелоидного ростка кроветворения костного мозга.

У животных опытной группы отмечены схожие изменения с животными контрольной группы в тканях селезёнки в виде гиперплазии лимфоидной ткани с более выраженным увеличением объёма белой пульпы у животных опытной группы до 40%, что на 5% больше значения данного показателя у животных контрольной группы (35%). Кроме того, в тканях селезёнки животных опытной группы установлено острое венозное полнокровие, не отмеченное в контрольной группе. В тканях тонкого кишечника у животных обеих экспериментальных групп отмечена эозинофилия инфильтрата, но в опытной группе, в отличие от контроля, отмечена гиперплазия лимфоидной ткани. В тканях толстого кишечника у животных опытной и контрольной групп отмечен острый колит с выраженной эозинофилией инфильтрата в опытной группе и слабой эозинофилией в контрольной группе.

Таким образом, установлено, что исследуемый образец MgO по показателям размера и удельной площади поверхности частиц является наноматериалом. При ингаляционной экспозиции аэрозолем водной суспензии нанодисперсного MgO в фактической концентрации $0,485 \pm 0,121 \text{ мг}/\text{м}^3$ в течение 10 дней по 4 часа не зафиксировано гибели экспериментальных животных. Гистологическим исследованием у животных опытной группы отмечено острое полнокровие в тканях головного мозга, сердца, лёгких, печени, поджелудочной железы и почках, не установленное у животных контрольной группы, что, может быть, обусловлено сгущением крови в результате увеличения количества тромбоцитов, вызванного прямым действием наночастиц [13]. Как отмечается в некоторых исследованиях [14, 15] тромбоциты участвуют в воспалительных процессах, в связи с этим, есть вероятность, что в органах, подверженных полнокровию, может развиваться воспалительная реакция, на что указывает повышение уровня лейкоцитов [13] и, в случае печени – тромбокрита [16]. Кроме того, на развитие нарушений в тканях печени указывают повышенный уровень АЛТ [13] и сниженная доля палочкоядер-

ных нейтрофилов [17]. Геморрагический инфаркт лёгких животных опытной группы также может быть результатом тромбоцитоза [18]. Гиперплазия миелоидного ростка кроветворения костного мозга у животных опытной группы может обуславливать снижение уровня моноцитов [19].

Заключение. Полученные результаты сви-

детельствуют о наличии у наночастиц MgO токсических свойств, и позволяют повысить эффективность обоснования мер профилактики для работающих и населения, подвергающихся ингаляционной экспозиции наноразмерных частиц MgO в процессе производства и потребления продукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

1. Benefits and Applications // National Nanotechnology Initiative [Электронный ресурс]. URL: <https://www.nano.gov/you/nanotechnology-benefits>.
2. Batt C.A., Tortorello M.L. Encyclopedia of Food Microbiology. Second Edition V. 1. Academic Press Elsevier. 2014. 3248 p.
3. Pradhan N., Singh S., Ojha N., Shrivastava A., Baria A., Rai V. et al. Facet of Nanotechnology as Seen in Food Processing, Packaging, and Preservation Industry // Biomed Res Int. 2015. V. 2015. 17 p.
4. Cushem M., Kerry J., Morris M., Cruz-Romero M., Cummins E. Nanotechnologies in the food industry – Recent developments, risks and regulation // Trends in Food Science & Technology. 2012. № 24(1). P. 30-46.
5. Magnesium Oxide (MgO) nanoparticles – Properties, Applications // Azonano [электронный ресурс]. [2013]. URL: <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3353>.
6. Global Market for Magnesium Oxide Nanoparticles to Surpass \$42 million by 2020 // Ceramic Industry [Электронный ресурс]. [2016]. URL: <https://www.ceramicindustry.com/articles/95323-global-market-for-magnesium-oxide-nanoparticles-to-surpass-42-million-by-2020>.
7. Kumaran R.S., Choi Y.-K., Singh V., Song H.J., Song K.J., Kim K.J. et al. In Vitro Cytotoxic Evaluation of MgO Nanoparticles and Their Effect on the Expression of ROS Genes // International Journal of Molecular Sciences. 2015. № 16. P. 7551-7564.
8. Mahmoud A., Ezgi Ö., Merve A., Özhang G. In Vitro Toxicological Assessment of Magnesium Oxide Nanoparticle Exposure in Several Mammalian Cell Types // International Journal of Toxicology. 2016. № 35(4). P. 429-437.
9. Mangalampalli B., Dumala N., Venkata R.P., Grover P. Genotoxicity, biochemical, and biodistribution studies of magnesium oxide nano and microparticles in albino wistar rats after 28-day repeated oral exposure // Environmental Toxicology. 2017. № 00. P. 1-15.
10. Srinivasan V., Bhavan P.S., Rajkumar G. Dietary Supplementation of Magnesium Oxide (MgO) Nanoparticles for Better Survival and Growth of the Freshwater Prawn Macrobrachium rosenbergii Post-larvae // Biological Trace Metal Research. 2017. № 177(1). P. 196-208.
11. Ghobadian M., Nabiuni M., Parivar K., Fathi M., Pazooki J. Toxic effect of magnesium oxide nanoparticles on early developmental and larval stages of zebrafish // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2015. № 122. P. 260-267.
12. Magnesium oxide nanopowder, ≤50 nm particle size (BET) material safety data sheet (MSDS) // Sigma-Aldrich. 2012. 6 p.
13. Ilinskaya A.N. and Dobrovolskaia M.A. Nanoparticles and the blood coagulation system. Part II: safety concern // Nanomedicine (Lond). 2013. V. 8. № 6. P. 969-981.
14. Huang H.S. and Chang H.H. Platelets in inflammation and immune modulations: functions beyond hemostasis // Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2012. V. 60. № 6. P. 443-451.
15. Jenne C.N., Urrutia R. and Kubes P. Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity // Int J Lab Hematol. 2013. V. 35. № 3. P. 254-261.
16. Wang L.-R., Zhou Y.-F., Zhou Y.-J., Zhang S.H., Liu W.Y., Wu S.J. et al. Elevation of plateletcrit increasing the risk of non-alcoholic fatty liver disease development in female adults: A large population-based study // Clinica Chimica Acta. 2017. V. 474. P. 28-33.
17. Tietze K.J. Clinical Skills for Pharmacists (Third Edition) // Mosby. 2012. 214 p.
18. Kroll M.H. and Afshar-Kharghan V. Platelets in pulmonary vascular physiology and pathology // Pulmonary Circulation. 2012. V. 2. № 3. P. 291-308.
19. Molyneux G., Andrews M., Sones W., York M., Barnett A., Quirk E. et al. Haemotoxicity of busulphan, doxorubicin, cisplatin and cyclophosphamide in the female BALB/c mouse using a brief regimen of drug administration // Cell Biol Toxicol. 2011. № 27. P. 13-40.

M.S. Stepankov

RESEARCH AND EVALUATION OF THE TOXICITY PARAMETERS OF NANO-DISPERSED MAGNESIUM OXIDE IN REPEATED INHALATION EXPOSURE

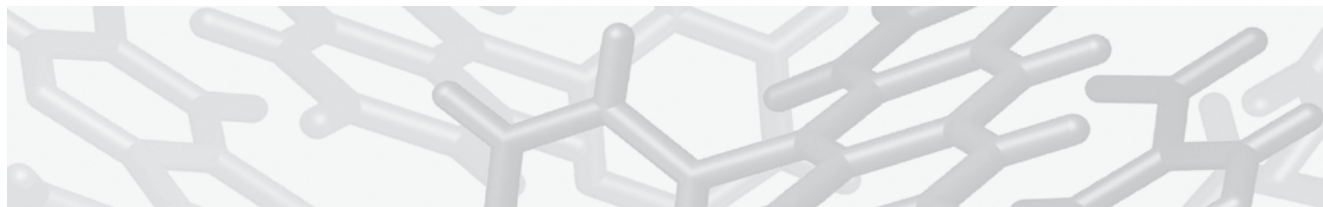
Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 614045, Perm, Russian Federation

A repeated inhalation exposure of Wistar rats to an aerosol of aqueous suspension of nano-dispersed magnesium oxide (5-100 nm) with actual concentration of $0,485 \pm 0,121 \text{ mg/m}^3$ has been studied. There was a significant increase in the activity of alanine aminotransferase, as well as the number of leukocytes and platelets, thrombocrit. At the same time, a significant decrease in stab neutrophils and monocytes has been noted. In animals of the experimental group, acute plethora has been found in the tissues of the brain, heart, lungs, liver, pancreas, and kidneys. Subarachnoid hemorrhages in the brain; hemorrhagic heart attacks and hyperplasia of lung tissue; hyperplasia of the myeloid germ of hematopoietic bone marrow and lymphoid tissue of the small intestine; eosinophilia of infiltrate in the stomach and large intestine have been established. The results obtained make it possible to increase the effectiveness of substantiating preventive measures for workers and population exposed to inhalation exposure to nanoparticles of magnesium oxide.

Keywords: nanoparticles, magnesium oxide, inhalation, blood parameters, pathomorphological changes.

Quote: M.S. Stepankov. Research and evaluation of the toxicity parameters of nano-dispersed magnesium oxide in repeated inhalation exposure. Toxicological Review. 2020; 1: 45-48.

Переработанный материал поступил в редакцию 20.03.2019 г.



ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

▶ КОНКУРС НАУЧНЫХ РАБОТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ

УДК 615.099-632.951

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-1-49-53

ИММУНОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ИВЕРМЕКТИНА У ПРОДУКТИВНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Т.В. Герунов

ФГБОУ ВО Омский государственный
аграрный университет имени
П.А. Столыпина, 644008, г. Омск,
Российская Федерация

Цель работы – выявить иммунотропные эффекты ивермектина у продуктивных и лабораторных животных в реальных и модельных условиях.

Исследования проведены на свиньях гибридной линии в возрасте 144 дней в условиях промышленного свиного комплекса и крысах линии Вистар в возрасте 5 месяцев с массой тела 230-250 г. В опытах использовали инсектоакарицидный препарат Ивермин (Biovet Drwalew S.A., Польша), который вводили свиньям однократно подкожно в дозе 0,2 мг/кг, крысам – в десятикратной терапевтической дозе. Забор крови у свиней осуществляли до введения Ивермина, через 1, 3, 7, 14 и 30 суток после введения. В сыворотке крови определяли уровень иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Для приготовления гистопрепаратов брали у крыс кусочки тимуса, селезенки и лимфоузлов через 14 суток после введения препарата. При статистической обработке экспериментальных данных использовали Т-критерий Стьюдента для зависимых выборок.

При исследовании сыворотки крови свиней установлено снижение содержания IgG во все сроки исследования, IgM и IgA – через 7 суток после начала опыта. По окончании эксперимента уровень IgG оставался ниже фонового значения на 16,4%; IgM – на 15,2%; IgA – на 33%. В тимусе крыс отмечено сужение коркового вещества при введении токсической дозы Ивермина, фолликулы селезенки уменьшены, центры размножения в них слабо выражены. Вокруг фолликулов наблюдается скопление гемосидерина. В брыжеечных лимфатических узлах отмечается утолщение капсулы и расширение трабекул. Корковое вещество сужено, паракортикальная зона расширена. Результаты исследования указывают на высокую степень риска иммунотоксических эффектов ивермектина.

Ключевые слова: ивермин, ивермектин, пестициды, иммунотропные эффекты, крысы, свиньи.

Цит.: Т.В. Герунов. Иммунотропные эффекты ивермектина у продуктивных и лабораторных животных. Токсикологический вестник. 2020; 1: 49-53.

Введение. Авермектины – продукты жизнедеятельности грибов *Streptomyces avermitilis*. Ивермектин (В1а и В1b 5-О-диметил-22,23-дигидроавермектин) является наиболее часто используемым соединением из числа авермектинов, ко-

торые представляют собой группу 16-членных макроциклических соединений лактона. Основная сфера их применения – лечение и профилактика ряда экто- и эндопаразитозов [1], в том числе у людей [2]. Наличие разнообразных лекарственных

ных форм обеспечивает удобство его использования и способствует широкому применению в разных клинических ситуациях. При этом особенно актуальным остается изучение дозозависимого действия ивермектина как в модельных опытах на лабораторных животных, так и в условиях производства на продуктивных животных. Это обусловлено противоречивой интерпретацией экотоксикологической характеристики ивермектинов, которые, с одной стороны, считаются относительно безопасными для млекопитающих [3], но в то же время обсуждается возможность их циркуляции в объектах окружающей среды и накопления в нецелевых организмах [4].

Для многих токсикантов (в том числе пестицидов) характерно разновекторное влияние на организм даже при условии четко определенного механизма действия и молекул-мишеней [5]. Механизм действия ивермектина реализуется за счет повышения активности рецепторов γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и глутамат-управляемых хлорид-ионных каналов (Glu-Cl) [6-8]. У млекопитающих ГАМК-чувствительные нейроны защищены гематоэнцефалическим барьером, что, по мнению ряда авторов, обуславливает меньшую токсичность этой группы соединений для животных [8, 9]. Однако описано негативное влияние ивермектинов на сердечно-сосудистую [10], репродуктивную, эндокринную [11] и другие системы, что свидетельствует о политропном действии препаратов данной группы. Важная роль в регуляции гомеостаза принадлежит иммунной системе, которая в кооперации с нервной и эндокринной образует единую регуляторную систему организма [12]. Изменение ее реактивности сопровождается нарушением функционирования разных органов и систем.

Цель исследования – выявить иммуотропные эффекты ивермектина у продуктивных и лабораторных животных в реальных и модельных условиях.

Материалы и методы исследования. Работу выполняли в два этапа. На первом этапе исследования изучали влияние препарата Ивермин (действующее вещество – ивермектин) на содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови свиней в производственных условиях на базе одного из промышленных свинокомплексов. Для этого после однократного введения животным Ивермина в терапевтической дозе (0,2 мг/кг) проводили в динамике количественное определение иммуноглобулинов отдельных классов (изотипов) в двух повторностях методом радиальной иммунодиффузии по Манчини с использованием моноспецифических антисывороток и моноклональных антител к отдельным классам иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) и стандартной сыворотки крови свиней с известным

содержанием иммуноглобулинов каждого изо-типа [13].

На втором этапе работы изучали иммуотоксическое действие Ивермина в модельных опытах на лабораторных животных. Для этого использовали десятикратную терапевтическую дозу (2 мг/кг) для определения вектора развития иммуотропных эффектов и выявления органов-мишеней в структуре иммунной системы. Для этого был проведен эксперимент на крысах-самцах (Wistar) с массой тела 230-250 г., которых разделили на две группы (n=10). Первая группа была контрольной (интактные животные, которым внутримышечно вводили физиологический раствор), животным второй группы внутримышечно однократно инъецировали Ивермин. Через 14 суток после этого животных подвергали эвтаназии и проводили патоморфологические исследования. Части тимуса, селезенки и брыжеечных лимфатических узлов фиксировали в 4%-ном нейтральном растворе формальдегида. Обезживание проб проводили в спиртах восходящей концентрации с последующей заливкой в парафин. Со сформированных парафиновых блоков на ротационном микротоме получали срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Соединения железа окисной формы, содержащиеся в гемосидерине, выявляли реакцией на берлинскую лазурь по Перлеу. Микрофотосъемку гистологических препаратов проводили на цифровом микроскопе Альтами БИО 1 («Альтами», Россия).

Во время опытов и в процессе выведения крыс из эксперимента соблюдались требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

Экспериментальные данные обрабатывали при помощи Т-критерия для зависимых выборок. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$. Результаты представляли как среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней ($M \pm SEM$). Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc, USA).

Результаты и обсуждение. Результаты исследования сыворотки крови свиней после однократной инъекции терапевтической дозы Ивермина с целью профилактики нематодозов и эктопаразитозов представлены в таблице 1.

Во все сроки исследования (через 1, 3, 7, 14 и 30 суток после инъекции) отмечали статистически значимое снижение содержания иммуноглобулинов G по сравнению с фоновым показателем. Содержание иммуноглобулинов M и A снижалось со статистической достоверностью лишь через 7 суток после начала опыта и не достигало исход-

Таблица 1

**Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови свиней после обработки Ивермином,
n=10, M±SEM**

Интервал времени,	Содержание иммуноглобулинов, мг/мл		
	IgG	IgM	IgA
До введения (в возрасте 144 дней)	21,18±0,17	3,03±0,06	0,917±0,009
Через 1 сутки после введения	20,45±0,17 P=0,0023	3,06±0,04 P=0,7508	0,892±0,010 P=0,1447
Через 3 суток после введения	20,25±0,20 P=0,0076	2,95±0,04 P=0,3657	0,860±0,019 P=0,0600
Через 7 суток после введения	20,09±0,04 P=0,0001	2,49±0,19 P=0,0428	0,789±0,018 P=0,0003
Через 14 суток после введения	19,76±0,25 P=0,0007	2,74±0,10 P=0,0377	0,752±0,014 P<0,0001
Через 30 суток после введения	17,70±0,55 P=0,0004	2,57±0,10 P=0,0036	0,614±0,011 P<0,0001

ных значений через 30 суток ($P<0,01$). При этом по окончании эксперимента уровень IgG оставался ниже показателя фона на 16,4%; IgM – на 15,2%; IgA – на 33%.

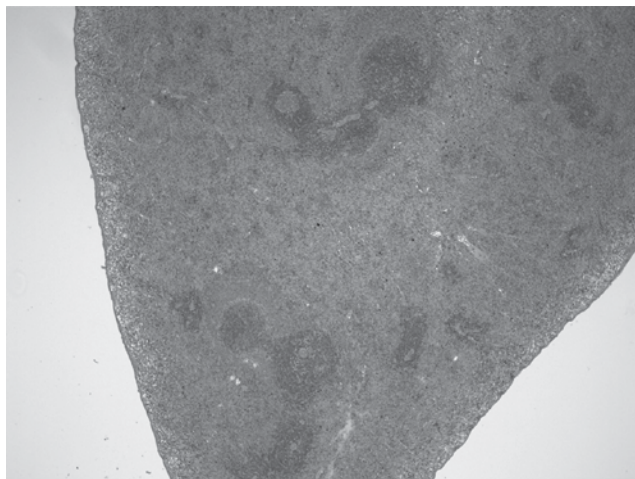
Результаты исследований свидетельствуют о влиянии терапевтических доз ивермектина на гуморальное звено иммунитета. Сохранение пониженного уровня IgG в сыворотке крови свиней в течение 30 дней после обработки животных повышает риск развития иммунодефицитных состояний, так как именно эти белки плазмы крови обеспечивают эффективность вторичного иммунного ответа [14], что имеет принципиальное значение в условиях промышленного животноводства. Внедрение интенсивных технологий в свиноводство требует концентрации поголовья с учетом ограниченных норм площади на одно животное, поэтому основной задачей является профилактика инфекционных заболеваний (главным образом, с помощью многократных вакцинаций). В этих условиях возрастает роль антител вторичного иммунного ответа. Кроме того, проникая через плацентарный барьер, IgG обеспечивают иммунитет плодов и новорожденных [14], поэтому супоросные свиноматки относятся к группе риска при использовании ивермектина. Снижение уровня IgM сопровождается угнетением первичного иммунного ответа [15], а низкий уровень IgA

на фоне применения Ивермина свидетельствует о возрастании риска развития недостаточности местного иммунитета, что может способствовать развитию респираторных и желудочно-кишечных заболеваний у животных. Снижение данного показателя всегда говорит о низкой резистентности [16].

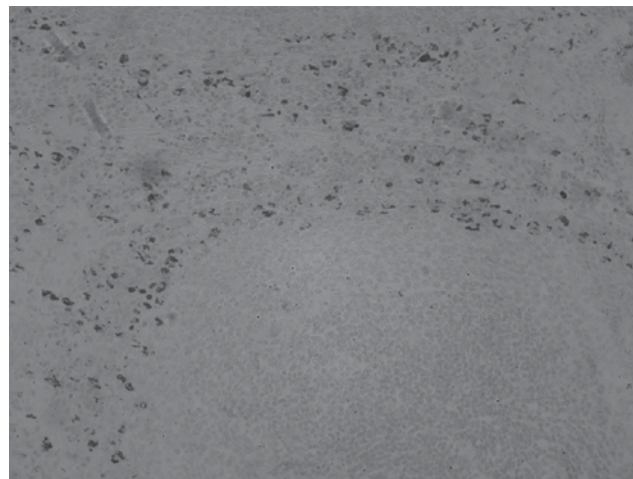
Имунотоксические свойства ивермектина подтверждают результаты патоморфологического исследования органов иммунной системы крыс.

Через 14 суток после однократного введения ивермектина в дозе 2 мг/кг отмечали увеличение селезенки, сосуды ее были кровенаполнены. При микроскопическом исследовании регистрировали в основном мелкие фолликулы. Лишь отдельные фолликулы имели герминативные центры (рис. 1А). В селезенке выявлялось значительное количество гемосидерина, который в основном располагался вокруг фолликулов (рис. 1Б).

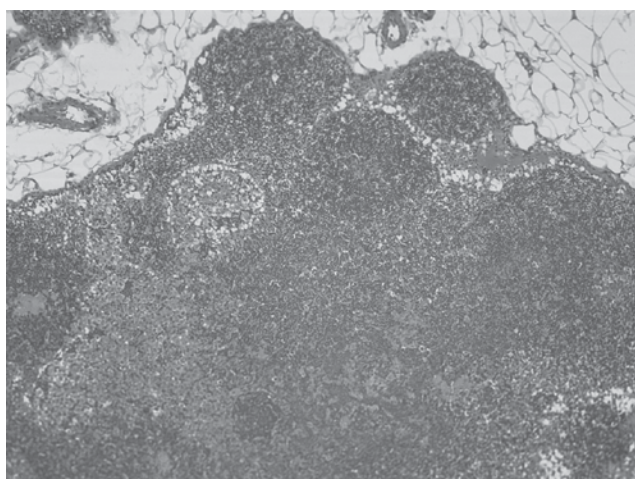
Брыжеечные лимфатические узлы были несколько набухшими и покрасневшими. При гистологическом исследовании брыжеечного лимфатического узла наблюдалось утолщение капсулы и расширение трабекул. Кровеносные сосуды были кровенаполнены. Коровое вещество лимфоузлов несколько сужено по сравнению с контрольными животными. Лимфатические узелки в основном мелкие или средних размеров, редко регистриру-



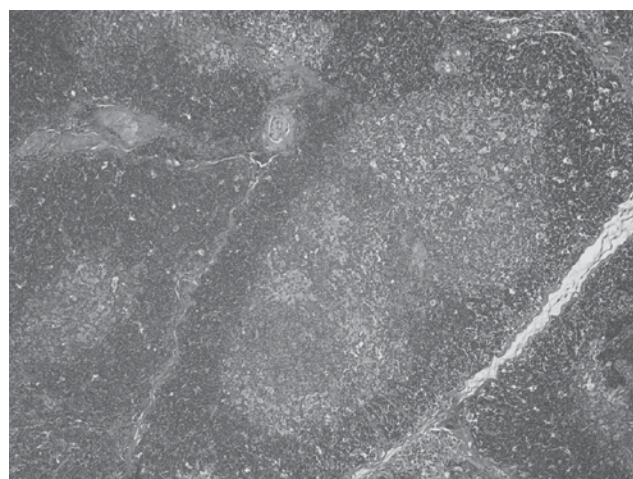
А



Б



В



Г

Рис. 1. Мелкие фолликулы в селезенке у крысы, подвергнутой интоксикации ивермектином. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$. (А); Гемосидерин в селезенке крысы после введения ивермектина в токсической дозе. Метод Перлса, $\times 300$ (Б); Кортиковое и мозговое вещество в брыжеечном лимфатическом узле у крысы при остром отравлении ивермектином. Герминативные центры в узелках слабо выражены. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 150$. (В); Сужение коркового вещества тимуса у крысы при остром отравлении ивермектином. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 150$. (Г).

ются крупные, лишь в отдельных лимфатических узелках выявляются герминативные центры. Корона лимфатических узелков представлена в основном скоплением лимфоцитов. Паракортикальная зона лимфатических узлов несколько расширена. Площадь мозгового вещества увеличена (рис. 1В).

Дольчатое строение тимуса у крыс сохранено. В соединительнотканых перегородках достаточно хорошо заметны кровенаполненные сосуды. Граница коркового и мозгового веществ в дольках тимуса отчетлива различима. Проллиферирующие тимоциты коркового вещества располагаются между эпителиоретикулярными клетками. В мозговом веществе тимуса плотность тимоцитов снижена. Кортиковое

вещество тимуса у интоксигированных животных сужено по сравнению с интактными животными (рис. 1Г).

Заключение. Введение ивермектина лабораторным и продуктивным животным независимо от дозы вызывает развитие признаков иммунодепрессии. Морфологические изменения в тимусе, селезенке и лимфоузлах свидетельствуют о том, что иммунная система является уязвимой мишенью действия ивермектина. Длительный период гипогаммаглобулинемии у животных после противопаразитарной обработки повышает риск инфекционных заболеваний, что требует оптимизации плана профилактических мероприятий в промышленном животноводстве.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Laing R., Gillan V., Devaney E. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? Trends Parasitol. 2017; 33(6): 463-72.
2. Chaccour C., Hammann F., Rabinovich N.R. Ivermectin to reduce malaria transmission I. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations regarding efficacy and safety. Malar J. 2017; 16(1): 161.
3. Atakisi E., Atakisi O., Topcu B., Uzun M. Effects of therapeutic dose of ivermectin on plasma nitric oxide and total antioxidant capacity in rabbits. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2009; 13(6): 425-29.
4. Tiwari R.M., Sinha M. Veterinary Toxicology. Jaipur: Oxford Book Company, 2010: 17-38.
5. Герунов Т. В. Редькин Ю.В., Герунова Л.К. Иммуноотоксичность пестицидов: роль

6. в патологии животных и человека. Успехи современной биологии. 2011; 131(5): 474-82.
6. Bai S.H., Ogbourne S. Eco-toxicological effects of the avermectin family with a focus on abamectin and ivermectin. Chemosphere. 2016; 154: 204-14.
7. Zhang Y., Luo M., Xu W., Yang M., Wang B., Gao J., Li Y., Tao L. Avermectin confers its cytotoxic effects by inducing DNA damage and mitochondria-associated apoptosis. J. Agric. Food. Chem. 2016; 64: 6895-902.
8. Zhang Y., Wu J., Xu W., Gao J., Cao H., Yang M., Wang B., Hao Y., Tao L. Cytotoxic effects of Avermectin on human HepG2 cells in vitro bioassays. Environ. Pollut. 2017; 220: 1127-37.

9. Juarez M., Schcolnik-Cabrera A., Dueñas-Gonzalez A. The multitargeted drug ivermectin: from an antiparasitic agent to a repositioned cancer drug. Am. J. Cancer. Res. 2018; 8(2): 317-31.
10. Pimenta P.H., Silva C.L., Noël F. Ivermectin is a nonselective inhibitor of mammalian P-type ATPases. Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol. 2010; 381(2): 147-52.
11. EL-Maddawy Z.K., Abd El Naby W.S.H. Effects of ivermectin and its combination with alpha lipoic acid on expression of IGFBP-3 and HSPA1 genes and male rat fertility. Andrologia. 2018; 50(3).
12. Taub D.D. Neuroendocrine interactions in the immune system. Cell Immunol. 2008; 252(1-2): 1-6.

13. Manchini G., Carbonara A.O., Heremans I.P. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry. 1965; 2(3): 235-54.
14. Schroeder H.W. Jr., Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J. Allergy Clin. Immunol. 2010; 125(2 Suppl 2): S41-S52.
15. Boes M. Role of natural and immune IgM antibodies in immune responses. Mol. Immunol. 2000; 37: 1141-9.
16. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). Москва: Медицинская книга; 2003.

REFERENCES:

1. Laing R., Gillan V., Devaney E. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? Trends Parasitol. 2017; 33(6): 463-72.
2. Chaccour C., Hammann F., Rabinovich N.R. Ivermectin to reduce malaria transmission I. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations regarding efficacy and safety. Malar J. 2017; 16(1): 161.
3. Atakisi E., Atakisi O., Topcu B., Uzun M. Effects of therapeutic dose of ivermectin on plasma nitric oxide and total antioxidant capacity in rabbits. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2009; 13(6): 425-29.
4. Tiwari R.M., Sinha M. Veterinary Toxicology. Jaipur: Oxford Book Company, 2010: 17-38.
5. Gerunov T.V., Redkin Yu.V., Gerunova L.K.

6. Immunotoxicity of Pesticides and its Role in Animal and Human Pathology. Uspehi sovremennoy biologii. 2011; 131(5): 474-82 (in Russian).
6. Bai S.H., Ogbourne S. Eco-toxicological effects of the avermectin family with a focus on abamectin and ivermectin. Chemosphere. 2016; 154: 204-14.
7. Zhang Y., Luo M., Xu W., Yang M., Wang B., Gao J., Li Y., Tao L. Avermectin confers its cytotoxic effects by inducing DNA damage and mitochondria-associated apoptosis. J. Agric. Food. Chem. 2016; 64: 6895-902.
8. Zhang Y., Wu J., Xu W., Gao J., Cao H., Yang M., Wang B., Hao Y., Tao L. Cytotoxic effects of Avermectin on human HepG2 cells in vitro bioassays. Environ. Pollut. 2017; 220: 1127-37.

9. Juarez M., Schcolnik-Cabrera A., Dueñas-Gonzalez A. The multitargeted drug ivermectin: from an antiparasitic agent to a repositioned cancer drug. Am. J. Cancer. Res. 2018; 8(2): 317-31.
10. Pimenta P.H., Silva C.L., Noël F. Ivermectin is a nonselective inhibitor of mammalian P-type ATPases. Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol. 2010; 381(2): 147-52.
11. EL-Maddawy Z.K., Abd El Naby W.S.H. Effects of ivermectin and its combination with alpha lipoic acid on expression of IGFBP-3 and HSPA1 genes and male rat fertility. Andrologia. 2018; 50(3).
12. Taub D.D. Neuroendocrine interactions in the immune system. Cell Immunol. 2008; 252(1-2): 1-6.

13. Manchini G., Carbonara A.O., Heremans I.P. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry. 1965; 2(3): 235-54.
14. Schroeder H.W. Jr., Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J. Allergy Clin. Immunol. 2010; 125(2 Suppl 2): S41-S52.
15. Boes M. Role of natural and immune IgM antibodies in immune responses. Mol. Immunol. 2000; 37: 1141-9.
16. Lebedev K.A., Pomyakina I.D. Immunodeficiency (detection and treatment). Moscow: Medical book; 2003 (in Russian).

T.V. Gerunov

IMMUNOTROPIC EFFECTS OF IVERMECTIN IN PRODUCTIVE AND LABORATORY ANIMALS

P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University, 644008, Omsk, Russian Federation

The aim of this work was to identify the immunotropic effects of ivermectin in productive and laboratory animals in real and simulated conditions. The studies were carried out on hybrid pigs at the age of 144 days reared in an industrial pig complex and on Wistar rats aged 5 months with a body weight of 230 - 250 g. For the experiments there was used acaricide insecticide Ivermin (Biovet Drwalew S.A., Poland), which was administered to pigs once subcutaneously in a dose of 0,2 mg / kg and to rats in a tenfold therapeutic dose. Blood samples were taken from pigs either before the administration of Ivermin, and 1, 3, 7, 14 and 30 days after the administration. The level of immunoglobulins (IgG, IgM, IgA) was determined in serum by the method of radial immunodiffusion according to Mancini. To prepare histopreparations, samples of thymus, spleen and lymph nodes were taken from rats 14 days after the administration of the preparation. For statistical processing of experimental data, Student's T-test for dependent samples has been used.

When studying pigs' blood serum, a decrease in the content of IgG was established in all periods of the study. A decrease in level of IgM and IgA was marked in 7 days after the experiment started. At the end of the experiment, the IgG level remained below the background value by 16,4%; IgM - by 15,2%; IgA – by 33%. In the rat thymus, a narrowing of the cortical substance was observed when a toxic dose of Ivermin was injected, with the splenic follicles reduced, and reproduction centers faintly pronounced. Hemosiderin accumulation was detected around the follicles. In the mesenteric lymph nodes, there was found a thickening of the capsule and the expansion of trabeculae. Cortical substance was narrow and paracortical zone was wide. The results of the study indicate a high risk of immunotoxic effect of ivermectin.

Keywords: Ivermin, ivermectin, pesticides, immunotropic effects, rats, pigs.

Quote: T.V. Gerunov. Immunotropic effects of ivermectin in productive and laboratory animals. Toxicological Review. 2020; 1: 49-53.

Материал поступил в редакцию 17.06.2019 г.

ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НА МОДИФИКАЦИЮ БИОАКТИВНОСТИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Л.С. Бондаренко¹, П.В. Учанов², Н.Г. Чистякова³,
В.А. Терехова^{3,4}, К.А. Кыдралиева^{1,3}

¹ФГБОУ ВО Московский авиационный институт
(Национальный исследовательский университет), 125993,
г. Москва, Российская Федерация

²ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции
им. А.Н. Северцова Российской академии наук, 119071,
г. Москва, Российская Федерация

³ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова, 119992, г. Москва, Российская Федерация.

⁴ФГБОУ ВО Российский экономический университет
им. Г.В. Плеханова, 117997, Москва, г. Москва, Российская
Федерация

В стандартизованных тест-системах проведены исследования воздействия магнитных наноматериалов на основе железа на живые системы – фотосинтезирующие растения. Проведено сравнение действия наночастиц магнетита и маггемита после стабилизации их поверхности гуминовыми кислотами по реакциям микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. и проростков семян высших растений – горчицы белой *Sinapis alba* L. Оценивали динамику ростовых тест-функций по изменению флуоресценции хлорофилла в суспензии микроводорослей и по изменению длины корней проростков семян при инкубации с исследуемыми препаратами относительно контрольных вариантов (без препаратов). Установлено, что обработка гуминовыми кислотами, достаточная для стабильности наночастиц железа по показателям фазового состояния, не обеспечивает снижение токсичности маггемита в обеих тест-системах. Обсуждаются возможные механизмы изменения экотоксичности синтезированных магнитных нанопрепаратов железа при взаимодействии с живыми системами в среде их роста.

Ключевые слова: наноматериалы, стабилизация, гуминовые вещества, экотоксичность, биотестирование.

Цит.: Л.С. Бондаренко, П.В. Учанов, Н.Г. Чистякова, В.А. Терехова, К.А. Кыдралиева. Влияние гуминовых кислот на модификацию биоактивности магнитных наночастиц. Токсикологический вестник. 2020; 1: 54-60.

Введение. С развитием нанотехнологий наночастицы (НЧ) получают все большее распространение благодаря особым физико-химическими функциональным свойствам. Большой интерес вызывает их способность адсорбировать токсические вещества.

Основу большинства магнитных наноматериалов, применяемых в промышленности, представляют суперпарамагнитные наночастицы магнетита (Fe_3O_4) и маггемита (Fe_2O_3). При обработке минералов и очистке сточных вод магнитные НЧ используются в качестве недорогих адсорбентов, которые могут быть разделены в магнитном по-

ле и удалены вместе с токсикантами. Широкое применение наноразмерных соединений на основе железа приводит к увеличению их накопления в окружающей среде также в виде отходов.

Слабая изученность последствий взаимодействия НЧ железа с живыми системами вызывает определенную настороженность при практическом применении этих наноматериалов, а в некоторых случаях даже обеспокоенность населения, контролирующих и управленческих структур, отвечающих за экологическое благополучие [1,2]. Высокая чувствительность к кислороду часто ограничивает применение НЧ, делает не-

Бондаренко Любовь Сергеевна (Bondarenko Liubov Sergeevna), аспирант, инженер, ФГБОУ ВО Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет), l.s.bondarenko92@gmail.com

Учанов Павел Владимирович (Uchanov Pavel Vladimirovich), младший научный сотрудник, ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, p.uchanov@gmail.com

Чистякова Наталья Георгиевна (Chistyakova Natalya Georgievna), доцент, ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, nchistyakova@yandex.ru

Терехова Вера Александровна (Terekhova Vera Aleksandrovna), доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией экотоксикологического анализа почв, ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, vterekhova@gmail.com

Кыдралиева Камила Асылбековна (Kydralievna Kamila Asylbekovna), доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет), kamila.kydralievna@gmail.com

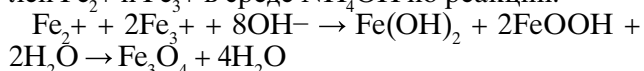
предсказуемыми их эффекты, поскольку резко меняются размеры частиц, магнитные свойства, биодоступность [3]. Известно, что ионы железа на поверхности наночастиц Fe_3O_4 имеют тенденцию к очень быстрому окислению, что приводит к трансформации магнетита в другую форму оксидов железа – маггемит. Вопрос о том, как влияет подобная трансформация структуры и состава наночастиц железа на их биодоступность представляет особый интерес для токсикологических исследований. В ходе оценки токсичности наночастиц различных оксидов железа по реакциям бактерий, водорослей и простейших отмечено ингибирование ростовых функций тест-культур наночастицами магнетита [4]. Одновременно, для другой формы наночастиц оксида железа – маггемита цитотоксическое действие не было доказано.

Важным преобразованием наночастиц в окружающей среде считают их агрегацию [5]. Для предотвращения агрегации НЧ железа в окружающей среде предлагаются своеобразные оболочки из органических материалов – белков и других природных компонентов [6-8]. Взаимодействие оксидов железа с природными коллоидами (например, глинами и метаболитами микроорганизмов) затрудняет прогнозирование их агрегации в окружающей среде [9-12]. В этой связи интерес представляют гуминовые вещества, с которыми в природной среде НЧ оксидов железа неизбежно соприкасаются. Установлено, что гуминовые вещества (ГВ) оказывают большое влияние на свойства и поведение НЧ [13], способствуя электростатической и стерической стабилизации НЧ, препятствуя агрегации НЧ. На наш взгляд, интересным представляется вопрос о том, какое влияние ГВ могут оказывать на биодоступность и токсические характеристики магнитоактивных наноматериалов, поскольку в различных отраслях производства, включая решение экологических задач, они широко применяются как адсорбенты токсикантов.

Задача данной работы заключалась в сравнительной оценке биологических эффектов наночастиц железа – исходных и модифицированных гуминовыми кислотами (ГК) на живые организмы с помощью стандартных биотест-систем.

Материалы и методы исследования.

Наночастицы Fe_3O_4 и их модификация гуминовыми кислотами. Образцы наночастиц (НЧ) магнетита для экспериментального исследования получали по методике, описанной А. Помогайло и соавторами [13], химическим соосаждением солей Fe_2+ и Fe_3+ в среде NH_4OH по реакции:



Модификация поверхности наночастиц магнетита гуминовыми кислотами (Powhumus,

Humintech Ltd.) проводили *in situ* путем введения ГК (20 масс.%) на стадии нуклеации наночастиц через 20 сек при интенсивном перемешивании 1200 об/мин при 40°C. Полученный образец функционализированных наночастиц магнетита Fe_3O_4 /ГК промывали дважды горячей дистиллированной водой, спиртом и высушивали на роторном испарителе в вакууме при 60°C. Далее проводили окисление образца Fe_3O_4 /ГК механическим диспергированием в планетарной мельнице (SPEX Sample Prep 8000 Mixer/Mill) при 1400 об/мин в течение 30 мин на воздухе. В работе исследовали три образца наночастиц: нативный Fe_3O_4 , Fe_3O_4 /ГК до и после окисления (Fe_2O_3 /ГК), для которых были получены ряд важных физических и химических характеристик, а также препарат гуминовых кислот, который использовали для функционализации поверхности наночастиц оксидов железа.

Фазовый состав образцов наноматериалов определяли методами рентгенофазового анализа (дифрактометр Philips X-pert), анализ профиля рентгеновских линий проводили на дифрактометре ДРОН-УМ-2 в геометрии Брегга-Брентано с использованием $CuK\alpha$ излучения. Значения тока и напряжения на рентгеновской трубке составляли 20 мА и 40 кВ, соответственно. Набор спектров проводили в режиме непрерывного сканирования при скорости движения детектора 10/мин. Анализ фазового состава проводили в платиновой кювете в двух режимах контроля температуры и набора рентгеновских спектров.

Для подтверждения фазового состава методом мессбауэровской спектроскопии исследовали структуру оксидов железа на спектрометре MS-1101-E, Mostec, в геометрии поглощения в режиме постоянных ускорений в диапазоне температур 4,5÷300 К. В качестве калибровочного образца применяли эталонный образец металлического α -Fe.

Биотестирование образцов в стандартных тест-системах. Для экотоксикологической оценки готовили 1,0 %-ные водные суспензии образцов. В экспериментах использовали их в разведениях, кратных десяти: 1,0; 0,1; 0,01; 0,001 (масс.%). Все пробы готовили в дистиллированной воде и диспергировали ультразвуком (100 Вт, 40 кГц) в течение 10 мин. для получения гомогенизированной суспензии. Подготовку проб для оценки токсичности проводили в соответствии со стандартными требованиями методик биотестирования [14].

Поскольку водные и почвенные экосистемы, испытывающие воздействие отходов производства и потребления, как важнейшие природные объекты контролируются в первую очередь по состоянию первого звена трофической

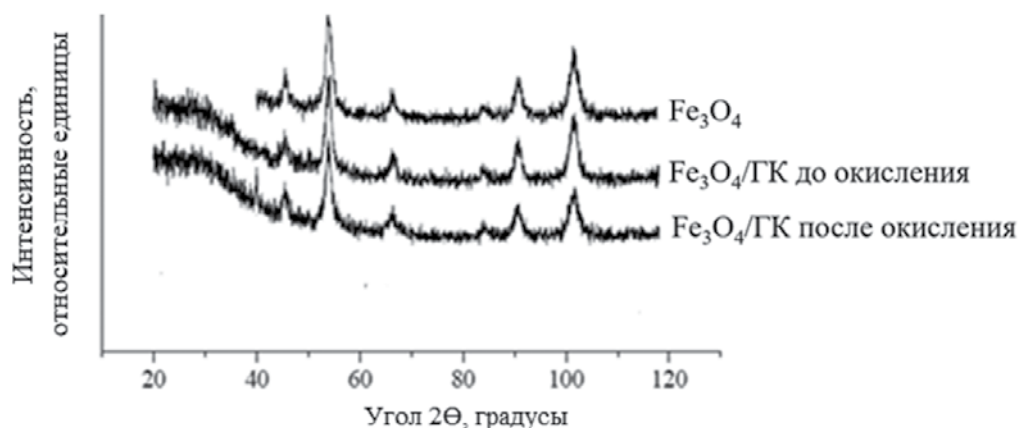


Рис. 1. Дифрактограммы образцов Fe_3O_4 и $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГК}$ до и после окисления

цепи экосистем – продуцентов органической материи, то в качестве тест-организмов для оценки биологических эффектов наноматериалов были выбраны фотосинтезирующие растения. Биологическое тестирование образцов проводили по реакции зеленых микроводорослей сценедесмус – *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. и проростков семян высших растений – горчицы белой *Sinapis alba* L., как описано в [15, 16] с незначительной модификацией. Стандартизованные биотесты – альготестирование на основе протококковых зеленых водорослей и фитотестирование с использованием высших растений относятся к методам, рекомендованным для целей государственного и производственного экологического контроля [17, 18].

Альготестирование на культуре пресноводных микроводорослей сценедесмус *S. quadricauda* проводили в питательной среде Успенского-1 (г/л: KNO_3 – 0.025; MgSO_4 – 0.025; KH_2PO_4 – 0.025; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 0.1; K_2CO_3 – 0.0345; $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}\cdot\text{nH}_2\text{O}$ – 0.002). При альготестировании фиксировали изменение уровня флуоресценции хлорофилла водорослей после 72 ч экспозиции исследуемых образцов в питательной среде (опыт). Контролем служили питательная среда Успенского-1 без добавления препаратов. Показатели флуоресценции измеряли с помощью фотометрического люминесцентного жидкостного анализатора «Флюорат-02-4М» (Lumex, RF) в начале и в конце экспозиции.

Фитотестирование биодоступности исследуемых образцов проводили по ростовой тест-функции на проростках семян горчицы белой *Sinapis alba* планшетным способом. Для этого семена растений после замачивания в суспензии тестируемого образца в течение суток переносили в прозрачные пластиковые контейнеры на фильтровальную бумагу, пропитанную тестируемой суспензией. Контейнеры инкубировали в течение

4-х суток в термостате при 25°C. Эффект воздействия образцов оценивали по изменению длины корней проростков семян.

Степень влияния образца на тест-организмы характеризовали по отклонению значений тест-параметров в каждой исследуемой концентрации в опытных пробах от таковых в контроле (в %). Эксперименты имели 3-5 повторностей. Результаты статистически обработаны с помощью пакета программ MS Office Excel.

Результаты и обсуждение. На первом этапе работы в результате синтеза путем эффективно соосаждения солей Fe_3^+ и Fe_2^+ получены наночастицы магнетита Fe_3O_4 . Для стабилизации заряда поверхности к наночастицам Fe_3O_4 в аммиачной среде были добавлены ГК, что позволило в итоге получить желаемый эффект на стадии их нуклеации за счет комплексообразования между COOH - и OH -группами ГК и Fe_3^+ (содержание COOH и OH -групп – 4,2 и 1,1 ммоль/г, соответственно). Процесс адсорбции ГК на зародышевых частицах контролировался данными ИК-спектроскопии [19]. Физико-химическая характеристика наноконкомпозитов по данным рентгенофазового анализа полученных образцов магнетита до и после окисления ГК указывают на сохранение фазы магнетита в обоих случаях (рис. 1).

Размер кристаллитов полученных наночастиц, определенный по рентгенограмме, составил 9.2 нм, 6.7 нм и 5.5 нм для наночастиц Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГК}$ до и после окисления, соответственно. Известно, что при таких размерах магнитные наночастицы оксида железа являются суперпарамагнитными с высокой намагниченностью насыщения (92-100 $\text{A}\cdot\text{m}^2/\text{кг}$ для Fe_3O_4 и 60-80 $\text{A}\cdot\text{m}^2/\text{кг}$ для Fe_2O_3) и высокой удельной площадью поверхности (до 120 $\text{m}^2/\text{г}$) [20].

Более детальная идентификация фаз железа проведена с помощью мессбауеровской спектро-

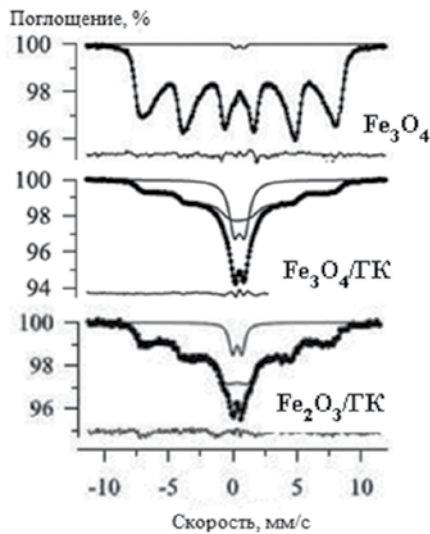


Рис. 2. Мессбауеровские спектры образцов наночастиц Fe_3O_4 и нанокомпозитов

скопии. Анализ мессбауеровских спектров подтвердил образование фазы Fe_2O_3 в присутствии стабилизирующей оболочки из гуминовых компонентов – $Fe_2O_3/ГК$ (рис. 2)

В экспериментах по биотестированию активности наночастиц Fe_3O_4 и композитов $Fe_3O_4/ГК$ и $Fe_2O_3/ГК$ по реакциям микроводорослей и высших растений установлено, что исходные (немодифицированные гуминовыми кислотами) образцы наночастиц Fe_3O_4 практически не оказывают токсическое действие в обеих тест-системах. Значения показателей флуоресценции клеток микроводорослей и длины корней не выходили на пороговое значение – 20 %-ное отклонение относительно контроля.

На рисунке 3 отражены результаты оценки развития корней проростков *S. alba*, которые свидетельствуют о том, что фитозффект от действия всех исследуемых препаратов при концентрациях 0,001, 0,01 и 0,1 (% масс.) был слабо выражен и вызывал лишь некоторую модуляцию тест-функции в пределах допустимого уровня токсичности (20 %). Повышение концентрации до 1,0 % оказало ярко выраженное токсическое действие на растения лишь для одного препарата – $Fe_2O_3/ГК$, которое проявилось в полном подавлении развития корней.

Результаты оценки изменений флуоресценции микроводорослей *S. quadricauda* в суспензии через 72 ч экспозиции с исследуемыми препаратами показаны на рисунке 4.

Следует отметить более высокую чувствительность стандартизированной культуры сценедесмус *S. quadricauda* к исследуемым препаратам по сравнению с проростками растений горчицы белой *S. alba*. Диапазон отклонений значений флуоресценции водорослей от контрольных вариантов в интервале концентраций 0,001-0,1 % масс. значительно выше, чем значений длины корней.

Из полученных данных видно, что влияние наночастиц оксидов железа, стабилизированных (функционализированных) гуминовыми кислотами – магнетита и маггемита на клетки микроводорослей различались. Если препарат магнетит $Fe_3O_4/ГК$ как и исходный оксид железа Fe_3O_4 несколько стимулировал флуоресценцию, то маггемит $Fe_2O_3/ГК$ оказался токсичным по отношению к водорослям. Причем эта токсичность проявилась даже в большей степени, чем в экспериментах с проростками высших тест-растений. Снижение флуоресценции относительно контро-

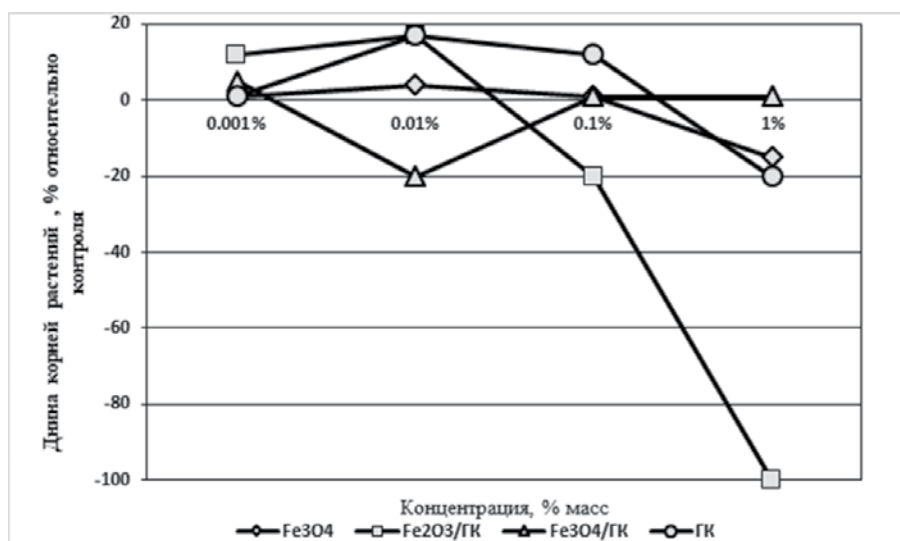


Рис. 3. Влияние наночастиц оксида железа, гуминовых кислот и их композитов на развитие корней высших растений *Sinapis alba* (по оси ординат: стимуляция (+), подавление (-))

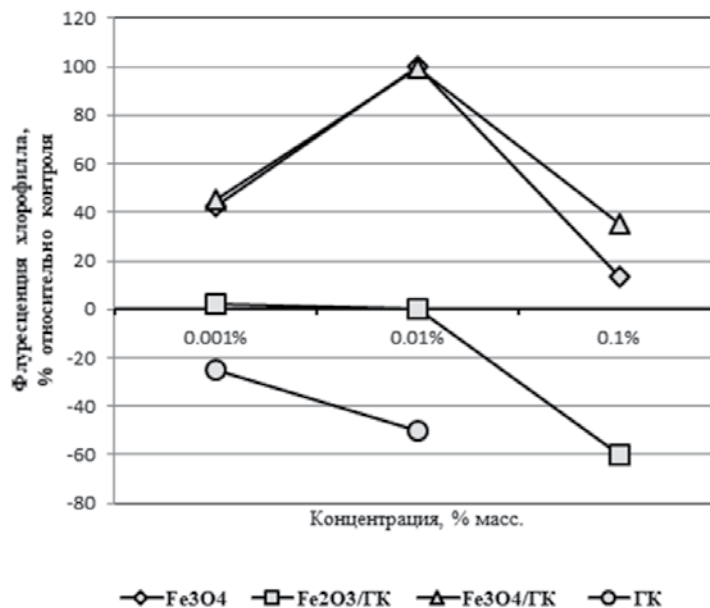


Рис. 4. Влияние наночастиц оксида железа, гуминовых кислот и их композитов на изменение флуоресценции суспензии клеток микроводорослей *Scenedesmus quadricauda*

ля на 60 % наблюдалось уже в пробах с концентрацией 0,1 % (масс.).

Воздействие более высоких концентраций образцов по показателю флуоресценции осложнено ввиду интенсивной окраски растворов (в частности, при 1,0 % масс.).

Обобщая результаты двух биотестов с использованием высших растений *S. alba* и микроводорослей *S. quadricauda* можно заключить, что токсичность наночастиц оксидов железа увеличивается в ряду: $Fe_3O_4 < Fe_3O_4/GK < Fe_2O_3/GK$.

Образующийся в результате окисления наночастиц магнетита маггемит Fe_2O_3 вызывает более токсичность по сравнению с нативными наночастицами Fe_3O_4 и композитом Fe_3O_4/GK . Вероятной причиной этому может быть высвобождение ионов Fe_{2+} и генерирование активных форм кислорода при механической обработке на воздухе магнетита.

Корреляция токсичности наночастиц железа со степенью окисления в ряду препаратов: $Fe_0 < \alpha-Fe_2O_3$ (гематит) $< \gamma-Fe_2O_3$ (маггемит) $< Fe_3O_4$ отмечалась в работе Ч. Лей и соавторов [21]. Закономерности в изменении степени токсичности наночастиц разных форм железа при изучении реакции микроводоросли *Chlorella rupepedosa* авторы объясняют последствиями окислительного процесса и физического взаимодействия с клетками. В работах других авторов потенциальные механизмы токсичности наночастиц связаны с освобождением ионов металлов, более свободным проникновением в клетки и физическими деструктивными воздействиями [22-25].

Наши эксперименты с двумя биотестами показали, что в контролируемых химических условиях водные суспензии препаратов могут безопасно для биоты использоваться только в определенных концентрациях. Эффективные (действующие) концентрации исследованных препаратов для тест-культуры микроводоросли существенно ниже, чем для высших растений. Полученные результаты дают основание полагать, что в естественных условиях воздействие природного органического материала, в частности, гуминовых веществ, не приводит к снижению токсического действия наночастиц железа на живые системы.

Заключение. В настоящем исследовании предпринята попытка установить, является ли функционализация поверхности наночастиц магнетита гуминовыми кислотами достаточным условием стабильности наночастиц по показателям не только фазового состояния, но и биоактивности.

Экотоксикологические эксперименты позволили выявить предельные токсические концентрации нанокompозитов в контролируемых лабораторных условиях. Исследования с использованием двух биотестов показали, что водные суспензии магнитных наночастиц и их модифицированных гуминовыми кислотами производных безопасны для биоты лишь в определенных концентрациях. Тест-культура водорослей характеризуется большей чувствительностью к исследованным препаратам, чем проростки высших растений. По отношению к микроводорослям *S. quadricauda* образцы маггемита обнаруживают

более высокую токсичность по сравнению с биотестами на *S. alba*.

В изменяющихся условиях окружающей среды, в частности, при воздействиях разных значений кислотности, метаболитов биоты, УФ излучения и других факторов, в практическом использовании

препаратов на основе наночастиц важным представляется учет изменений микроструктурных характеристик, приводящих к изменению активности нанопрепаратов по отношению к живым системам.

Данное исследование проводится в рамках гранта РФФИ № 18-33-01270.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Mahmoudi, M., Hofmann, H., Rothen-Rutishauser, B., Petri-Fink, A. Assessing the in vitro and in vivo toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Chemical Reviews*. 2011; 112: 2323-2338.
- Lefevre, E., Bossa, N., Wiesner, M.R., Gunsch, C.K. A review of the environmental implications of in situ remediation by nanoscale zero valent iron (nZVI): behavior, transport and impacts on microbial communities. *Science of the Total Environment*. 2016; 565: 889-901.
- Schwaminger S., Bauer D., Fraga-García P., Wagner F., and Berensmeier S. Oxidation of magnetite nanoparticles: impact on surface and crystal properties. *CrystEngComm*. 2017; 19: 246.
- Aruoja, S., Pokhrel, M., Sihtmäe, M., Mortimer, L., Mädler, Kahru, A. Toxicity of 12 metal-based nanoparticles to algae, bacteria and protozoa. *Environmental Science Nano*. 2015; 2: 630-644.
- Hotze, E.M., Phenrat, T., Lowry, G.V. Nanoparticle aggregation: challenges to understanding transport and reactivity in the environment. *Journal of Environmental Quality*. 2010; 39: 1909-1924
- Phenrat, T., Saleh, N., Sirk, K., Kim, H.J., Tilton, R.D., Lowry, G.V. Stabilization of aqueous nanoscale zerovalent iron dispersions by anionic polyelectrolytes: adsorbed anionic polyelectrolyte layer properties and their effect on aggregation and sedimentation. *Journal of Nanoparticle Research*. 2008; 10: 795-814.
- Tombacz, E., Toth, I.Y., Nesztor, D., Illes, E., Hajdú, A., Szekeres, M., et al. Adsorption of organic acids on magnetite nanoparticles, pH-dependent colloidal stability and salt tolerance. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2013. 435: 91-96
- Sheng, A., Liu, F., Xie, N., Liu, J. Impact of proteins on aggregation kinetics and adsorption ability of hematite nanoparticles in aqueous dispersions. *Environmental Science & Technology*. 2016; 50: 2228-2235
- Jung, B., O'Carroll, D., Sleep, B. The influence of humic acid and clay content on the transport of polymer-coated iron nanoparticles through sand. *Science of the Total Environment*. 2014; 496: 155-164
- Li, W., Lee, S.S., Mittelman, A.M., Liu, D., Wu, J., Hinton, et al. Aqueous aggregation behavior of engineered superparamagnetic iron oxide nanoparticles: effects of oxidative surface aging. *Environmental Science & Technology*. 2016; 50: 12789-12798.
- Philippe, A., Schaumann, G.E. Interactions of dissolved organic matter with natural and engineered inorganic colloids: a review. *Environmental Science & Technology*. 2014; 48: 8946-8962
- Wang, H., Adeleye, A.S., Huang, Y., Li, F., Keller, A.A. Heteroaggregation of nanoparticles with biocolloids and geocolloids. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2015; 226: 24-36
- Pomogailo AD, Kydraliev KA, Zaripova AA, Muratov VS, Dzhardimalieva GI, Pomogailo SI, et al. Magnetoactive humic-based nanocomposites. *Macromolecular Symposia*. 2011; 304: 18-23.
- Guidance on sample preparation and dosimetry for the safety testing of manufactured nanomaterials. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. 2012, 36: 1-93.
- Persoone G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring: the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit. 12th International Symposium on Toxicity Assessment, Brno, Czech Republic, 2005. 112.
- MicroBio Test Inc. Belgium. <http://www.microbiotests.be> (доступно на 7 февраля 2016)
- Ministry of Natural Resources and Environment of the Russian Federation. Russian Federation. <http://www.mnr.gov.ru> (доступно на 7 февраля 2016)
- Терехова В.А., Воронина Л.П., Гершкович Д.М., Ипатова В.И., Исакова Е.Ф., Котелевцев С.В., et al. Биотест-системы для задач экологического контроля: Методические рекомендации по практическому использованию стандартизованных тест-культур. М., Доброе слово. 2014.
- Kydraliev KA, Dzhardimalieva GI, Yurishcheva AA, Jorobekova SJ. Nanoparticles of magnetite in polymer matrices: synthesis and properties. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2016; 26: 1212-1220.
- Cornell R.M., Schwertmann U. The iron oxides. Structure, properties, reactions, occurrences and uses. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2003. 664
- Lei C, Sun Y, Tsang D., Lin D., Environmental transformations and ecological effects of iron-based nanoparticles. *Environmental Pollution* 2017; 232: 1-21
- Chen P.J., Tan S.W., Wu W.L. Stabilization or oxidation of nanoscale zerovalent iron at environmentally relevant exposure changes bioavailability and toxicity in medaka fish. *Environmental Science & Technology*. 2012; 46: 8431-8439.
- Keenan, C.R., Goth-Goldstein, R., Lucas, D., Sedlak, D.L. Oxidative stress induced by zero-valent iron nanoparticles and Fe(II) in human bronchial epithelial cells. *Environmental Science & Technology*. 2009; 43: 4555-4560.
- Lewinski, N., Colvin, V., Drezek, R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008; 4: 26-49.
- Xie, Y.K., Dong, H., Zeng, G., Tang, L., Jiang, Z., Zhang, C., et al. The interactions between nanoscale zero-valent iron and microbes in the subsurface environment: a review. *Journal of Hazard. Materials*. 2017; 321: 390-407.
- Pomogailo AD, Kydraliev KA, Zaripova AA, Muratov VS, Dzhardimalieva GI, Pomogailo SI, et al. Magnetoactive humic-based nanocomposites. *Macromolecular Symposia*. 2011; 304: 18-23.
- Guidance on sample preparation and dosimetry for the safety testing of manufactured nanomaterials. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. 2012, 36: 1-93.
- Persoone G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring: the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit. 12th International Symposium on Toxicity Assessment, Brno, Czech Republic, 2005. 112.
- MicroBio Test Inc. Belgium. Available at <http://www.microbiotests.be> (Accessed 2016 February 7)
- Ministry of Natural Resources and Environment of the Russian Federation. Russian Federation. Available at: <http://www.mnr.gov.ru> (Accessed 2016 February 7)
- Терехова В.А., Воронина Л.П., Гершкович Д.М., Ипатова В.И., Исакова Е.Ф., Котелевцев С.В., et al. Биотест системы для практического контроля: Методические рекомендации по практическому использованию стандартизованных тест культур. М., Доброе слово. 2014. (in Russian)
- Kydraliev KA, Dzhardimalieva GI, Yurishcheva AA, Jorobekova SJ. Nanoparticles of magnetite in polymer matrices: synthesis and properties. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2016; 26: 1212-1220.
- Cornell R.M., Schwertmann U. The iron oxides. Structure, properties, reactions, occurrences and uses. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2003. 664
- Lei C, Sun Y, Tsang D., Lin D., Environmental transformations and ecological effects of iron-based nanoparticles. *Environmental Pollution* 2017; 232: 1-21
- Chen P.J., Tan S.W., Wu W.L. Stabilization or oxidation of nanoscale zerovalent iron at environmentally relevant exposure changes bioavailability and toxicity in medaka fish. *Environmental Science & Technology*. 2012; 46: 8431-8439.
- Keenan, C.R., Goth-Goldstein, R., Lucas, D., Sedlak, D.L. Oxidative stress induced by zero-valent iron nanoparticles and Fe(II) in human bronchial epithelial cells. *Environmental Science & Technology*. 2009; 43: 4555-4560.
- Lewinski, N., Colvin, V., Drezek, R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008; 4: 26-49.
- Xie, Y.K., Dong, H., Zeng, G., Tang, L., Jiang, Z., Zhang, C., et al. The interactions between nanoscale zero-valent iron and microbes in the subsurface environment: a review. *Journal of Hazard. Materials*. 2017; 321: 390-407.

REFERENCES:

- Mahmoudi, M., Hofmann, H., Rothen-Rutishauser, B., Petri-Fink, A. Assessing the in vitro and in vivo toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Chemical Reviews*. 2011; 112: 2323-2338.
- Lefevre, E., Bossa, N., Wiesner, M.R., Gunsch, C.K. A review of the environmental implications of in situ remediation by nanoscale zero valent iron (nZVI): behavior, transport and impacts on microbial communities. *Science of the Total Environment*. 2016; 565: 889-901.
- Schwaminger S., Bauer D., Fraga-García P., Wagner F., and Berensmeier S. Oxidation of magnetite nanoparticles: impact on surface and crystal properties. *CrystEngComm*. 2017; 19: 246.
- Aruoja, S., Pokhrel, M., Sihtmäe, M., Mortimer, L., Mädler, Kahru, A. Toxicity of 12 metal-based nanoparticles to algae, bacteria and protozoa. *Environmental Science Nano*. 2015; 2: 630-644.
- Hotze, E.M., Phenrat, T., Lowry, G.V. Nanoparticle aggregation: challenges to understanding transport and reactivity in the environment. *Journal of Environmental Quality*. 2010; 39: 1909-1924
- Phenrat, T., Saleh, N., Sirk, K., Kim, H.J., Tilton, R.D., Lowry, G.V. Stabilization of aqueous nanoscale zerovalent iron dispersions by anionic polyelectrolytes: adsorbed anionic polyelectrolyte layer properties and their effect on aggregation and sedimentation. *Journal of Nanoparticle Research*. 2008; 10: 795-814.
- Tombacz, E., Toth, I.Y., Nesztor, D., Illes, E., Hajdú, A., Szekeres, M., et al. Adsorption of organic acids on magnetite nanoparticles, pH-dependent colloidal stability and salt tolerance. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2013. 435: 91-96
- Sheng, A., Liu, F., Xie, N., Liu, J. Impact of proteins on aggregation kinetics and adsorption ability of hematite nanoparticles in aqueous dispersions. *Environmental Science & Technology*. 2016; 50: 2228-2235
- Jung, B., O'Carroll, D., Sleep, B. The influence of humic acid and clay content on the transport of polymer-coated iron nanoparticles through sand. *Science of the Total Environment*. 2014; 496: 155-164
- Li, W., Lee, S.S., Mittelman, A.M., Liu, D., Wu, J., Hinton, et al. Aqueous aggregation behavior of engineered superparamagnetic iron oxide nanoparticles: effects of oxidative surface aging. *Environmental Science & Technology*. 2016; 50: 12789-12798.
- Philippe, A., Schaumann, G.E. Interactions of dissolved organic matter with natural and engineered inorganic colloids: a review. *Environmental Science & Technology*. 2014; 48: 8946-8962
- Wang, H., Adeleye, A.S., Huang, Y., Li, F., Keller, A.A. Heteroaggregation of nanoparticles with biocolloids and geocolloids. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2015; 226: 24-36
- Pomogailo AD, Kydraliev KA, Zaripova AA, Muratov VS, Dzhardimalieva GI, Pomogailo SI, et al. Magnetoactive humic-based nanocomposites. *Macromolecular Symposia*. 2011; 304: 18-23.
- Guidance on sample preparation and dosimetry for the safety testing of manufactured nanomaterials. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. 2012, 36: 1-93.
- Persoone G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring: the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit. 12th International Symposium on Toxicity Assessment, Brno, Czech Republic, 2005. 112.
- MicroBio Test Inc. Belgium. Available at <http://www.microbiotests.be> (Accessed 2016 February 7)
- Ministry of Natural Resources and Environment of the Russian Federation. Russian Federation. Available at: <http://www.mnr.gov.ru> (Accessed 2016 February 7)
- Терехова В.А., Воронина Л.П., Гершкович Д.М., Ипатова В.И., Исакова Е.Ф., Котелевцев С.В., et al. Биотест системы для практического контроля: Методические рекомендации по практическому использованию стандартизованных тест культур. М., Доброе слово. 2014. (in Russian)
- Kydraliev KA, Dzhardimalieva GI, Yurishcheva AA, Jorobekova SJ. Nanoparticles of magnetite in polymer matrices: synthesis and properties. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 2016; 26: 1212-1220.
- Cornell R.M., Schwertmann U. The iron oxides. Structure, properties, reactions, occurrences and uses. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2003. 664
- Lei C, Sun Y, Tsang D., Lin D., Environmental transformations and ecological effects of iron-based nanoparticles. *Environmental Pollution* 2017; 232: 1-21
- Chen P.J., Tan S.W., Wu W.L. Stabilization or oxidation of nanoscale zerovalent iron at environmentally relevant exposure changes bioavailability and toxicity in medaka fish. *Environmental Science & Technology*. 2012; 46: 8431-8439.
- Keenan, C.R., Goth-Goldstein, R., Lucas, D., Sedlak, D.L. Oxidative stress induced by zero-valent iron nanoparticles and Fe(II) in human bronchial epithelial cells. *Environmental Science & Technology*. 2009; 43: 4555-4560.
- Lewinski, N., Colvin, V., Drezek, R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008; 4: 26-49.
- Xie, Y.K., Dong, H., Zeng, G., Tang, L., Jiang, Z., Zhang, C., et al. The interactions between nanoscale zero-valent iron and microbes in the subsurface environment: a review. *Journal of Hazard. Materials*. 2017; 321: 390-407.

L.S. Bondarenko¹, P.V. Uchanov², N.G. Chistyakova³, V.A. Terekhova^{3,4}, K.A. Kydraliev^{1,3}

INFLUENCE OF HUMIC ACIDS ON THE MODIFICATION OF THE BIOACTIVITY OF MAGNETIC NANOPARTICLES

¹Moscow Aviation Institute, National Research University, Ministry of Science and Higher Education, 125993, Moscow, Russian Federation

²A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, 119071, Moscow, Russian Federation

³Lomonosov Moscow State University, Ministry of Science and Higher Education, 119992, Moscow, Russian Federation

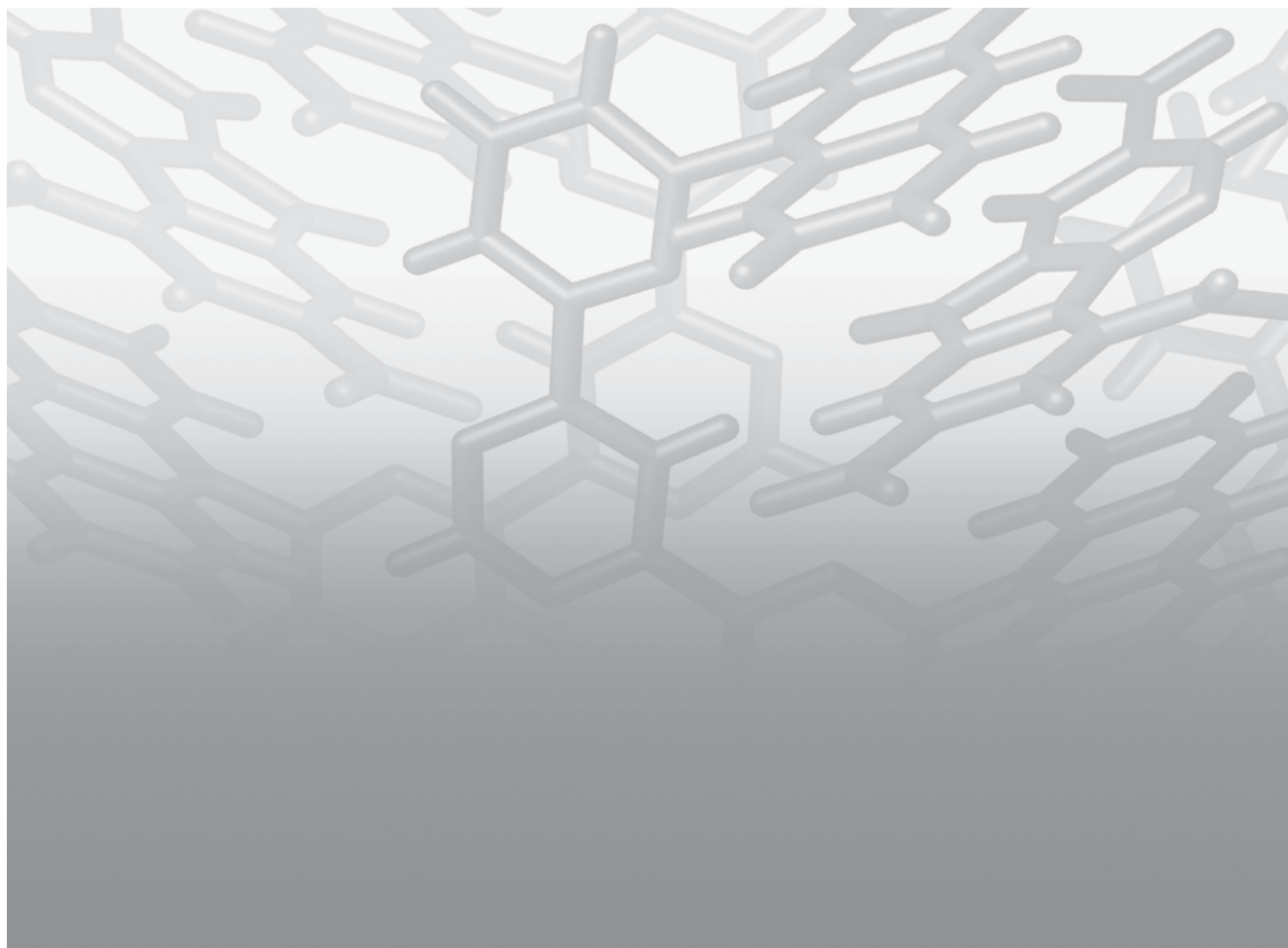
⁴Plekhanov Russian University of Economics, Ministry of Science and Higher Education, 117997, Moscow, Russian Federation

The influence of iron-based magnetic nanomaterials on living systems — photosynthetic plants — have been studied in standardized test systems. The effects of magnetite and maghemite nanoparticles after stabilization of their surface with humic acids by the reactions of microalgae *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. and sprouts of seeds of higher plants - white mustard *Sinapis alba* L. — have been compared. The dynamics of growth test functions have been evaluated by changing the fluorescence of chlorophyll in a suspension of microalgae and by changing the length of the roots of seed seedlings during incubation with the studied drugs relative to the control variants (without drugs). It has been found that the treatment with humic acids sufficient for the stability of iron nanoparticles in terms of the phase state does not reduce the toxicity of maghemite in both test systems. Possible mechanisms for changing the ecotoxicity of synthesized magnetic iron nanopreparations in interaction with living systems in their growth environment are discussed.

Keywords: *nanomaterials, stabilization, humic acids, ecotoxicity, biotesting.*

Quote: L.S. Bondarenko, P.V. Uchanov, N.G. Chistyakova, V.A. Terekhova, K.A. Kydraliev. Influence of humic acids on the modification of the bioactivity of magnetic nanoparticles. *Toxicological Review*. 2020; 1: 54-60.

Материал поступил в редакцию 19.07.2019 г.



НЕКРОЛОГ

ПАМЯТИ ЛИВАНОВА ГЕОРГИЯ АЛЕКСАНДРОВИЧА

24 января 2020 года в возрасте 85 лет скончался Заслуженный врач Российской Федерации, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, Лауреат премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники, профессор Ливанов Георгий Александрович.

Г.А. Ливанов родился 17 июля 1934 г. в г. Устюжна Вологодской области. В 1958 г. с отличием окончил 1 ЛМИ им. акад. И.П. Павлова. В течение 2 лет работал врачом «Скорой помощи» в г. Пскове. С 1960 по 1963 гг. – аспирант кафедры факультетской хирургии 1- Ленинградского медицинского института им. И.П. Павлова. С 1965 по 1986 гг. вел доцентский курс по анестезиологии-реаниматологии на кафедре госпитальной хирургии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова.

В 1965 году защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Препараты центрального холинолитического действия в анестезиологии», в 1984 году – докторскую диссертацию по спецтеме. В 1987 году утвержден в ученом звании профессора.

С 1986 по 2000 гг. Г.А. Ливанов заведовал кафедрой клинической токсикологии Ленинградского ГИДУВа. С 2000 по 2005 гг. – был ведущим научным сотрудником и руководителем отдела клинической токсикологии Санкт-Петербургского НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, и до последнего времени главным научным сотрудником отдела клинической токсикологии института. С 1986 по 1991 гг. руководил научно-практическим объединением «Токсикология» Минздрава СССР.

Профессор Г.А. Ливанов являлся опытным высококвалифицированным специалистом, врачом высшей категории, главным внештатным специалистом-токсикологом Комитета по здравоохранению Администрации г. Санкт-Петербурга. С 1988 по 1996 гг. являлся членом комиссии по чрезвычайным ситуациям при Правительстве Ленинграда и Санкт-Петербурга, с 2001 г. – членом Межведомственной комиссии по преду-



преждению чрезвычайных ситуаций координационного совета при Полномочном представителе Президента РФ в Северо-Западном Федеральном Округе.

Г.А. Ливанов являлся одним из лидеров современной отечественной клинической токсикологии, основателем Санкт-Петербургской школы клинических токсикологов, выдающимся организатором в области клинической токсикологии, анестезиологии и реаниматологии, ученым, чьи научные труды и изобретения получили широкое применение в клинической практике.

В течение ряда лет являлся руководителем научно-практического объединения «Токсикология МЗ СССР». Под его руководством защищено 15 кандидатских и 7 докторских диссертаций. Он автор более 250 научных работ, из них 7 монографий, 14 методических пособий.

За лучшую научную работу года профессору Г.А. Ливанову трижды присуждалась премия им. И.И. Джанелидзе. Он награжден медалями «Жителю блокадного Ленинграда» и «В память 300-летия Санкт-Петербурга».

Г. А. Ливанов пользовался заслуженным авторитетом и уважением коллег по работе

По случаю тяжелой утраты коллектив ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», отделения лечения отравлений и соматопсихиатрических расстройств НИИ им. Н.В. Склифосовского, кафедра клинической токсикологии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Межрегиональная благотворительная общественная организация «Ассоциация клинических токсикологов», ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, Всероссийская общественная организация токсикологов, редколлегия журнала «Токсикологический вестник» выражают глубокое соболезнование родным и близким.

СЪЕЗДЫ И КОНФЕРЕНЦИИ

60-Е СОВМЕСТНОЕ ЗАСЕДАНИЕ КОМИТЕТА ПО ХИМИИ И РАБОЧЕЙ ГРУППЫ ПО ХИМИИ, ПЕСТИЦИДАМ И БИОТЕХНОЛОГИИ

(г. Париж, Франция, 04.02.2020 – 06.02.2020)

04.02.2020 – 06.02.2020 г. в г. Париже состоялось 60-е совместное заседание Комитета по химии и Рабочей группы по химии, пестицидам и биотехнологии. В работе заседания приняла участие делегация Российской Федерации в составе представителей Минпромторга России, аппарата Роспотребнадзора, ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, КИЦ СНГ, Высшей школы экономики.

В ходе 60-го совместного заседания Комитета по химии и Рабочей группы по химии, пестицидам и биотехнологии обсуждались следующие вопросы:

1. Программа работы Комитета по экологической политике ОЭСР на 2019-2020 гг., которая включает такие направления, как: социально-экономический анализ регулирования химических веществ и оценка негативного воздействия на здоровье; вещества, загрязняющие поверхностные водоемы; устойчивые (безопасные) полимеры с химической точки зрения; обзор экологической эффективности химического регулирования. Следует отметить, что пункты программы ОЭСР на 2019 – 2020 гг. по оценке эффективности химического регулирования для сохранения здоровья человека (в условиях трудовой деятельности человека, воздействия на организм детей и подростков), оценке качества воды со-звучны ориентирам, определенным Посланием Президента Российской Федерации Федеральному Собранию Российской Федерации от 1 марта 2018 года, а также основным положениям Указа Президента Российской Федерации от 7 мая 2018 года № 204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года».

2. Концепция будущей Глобальной базы данных по химическим веществам (ГКХБ) и руководящие принципы, которые должны лежать в основе ее разработки. Разработка и использование ГКХБ будет способствовать достижению странами национальных и международных целей в области регулирования химических веществ, повышению эффективности и сокращению дублирования усилий, а также дальнейшему распространению информации

среди общественности и других заинтересованных сторон. Стандарты и инструменты ОЭСР, такие как OHTs, eChemPortal, QSAR Toolbox, а также инструменты, разработанные в сотрудничестве с ОЭСР, такие как IUCLID, использовались для хранения и/или использования и/или распространения данных о химических веществах. Они являются зрелыми стандартами / инструментами, но продолжают развиваться, что приводит к новым вопросам о том, как наилучшим образом направить эту эволюцию и обеспечить конвергенцию между инструментами. Кроме того, в настоящее время ведется сбор данных о химических веществах в поддержку разработки путей неблагоприятного исхода (АОП и база знаний АОП). ОЭСР рассматривает целесообразность обеспечения элементов согласования с традиционными инструментами данных о токсичности, чтобы обеспечить возможность упорядоченного обмена данными и их использования по мере того, как все больше и больше этих данных будет использоваться для принятия нормативных решений. ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора активно работает над внедрением современных методов QSAR в практику оценки опасности химических веществ и химической продукции. В настоящее время с использованием QSAR определяются группы веществ, потенциально способные вызывать сенсibiliзирующее действие.

3. Деятельность специальной группы по разработке обновленного варианта документа 1983 года «Рекомендации Совета о защите прав собственности на данные, представленные в нотификациях новых химических веществ». Обновленный документ «Рекомендации Совета о защите прав собственности на данные, представленные в нотификациях новых химических веществ» чрезвычайно актуален для реализации нотификации новых химических веществ в рамках Технического регламента ЕАЭС «О безопасности химической продукции» (ТР ЕАЭС 041/2017).

4. Доклад 2019 года «Сокращение затрат в области регулирования химических веществ: как ОЭСР обеспечивает выгоды для

общества». В публикации 2019 года «экономика затрат в области управления химическими веществами: как ОЭСР обеспечивает выгоды для общества» подсчитано, что чистые финансовые выгоды от программы ОЭСР по охране окружающей среды, здоровья и безопасности (EHS) составляет не менее 309 миллионов евро в год. Выгоды были количественно оценены на основе методологии сравнения двух сценариев: (i) один, в котором программа охраны окружающей среды, здоровья и безопасности не существует; и (ii) тот, в котором программа по охране окружающей среды, здоровья и безопасности создана и обеспечивает экономию средств, обусловленную, в частности, использованием руководящих указаний ОЭСР, обменом работой и режимом взаимного принятия данных (MAD). Изложенные в докладе этапность исследований, использование компьютерного моделирования и аналогового подхода в оценке безопасности новых химических веществ, могут служить для органов и организаций Роспотребнадзора основой оптимального и экономичного подхода к оценке опасности и гигиеническому нормированию новых химических веществ.

5. Проект программы Глобального форума по окружающей среде,

разработанный на основе обсуждений, состоявшихся на 59-м совместном совещании, и посвященный проблемам создания и внедрения экономически эффективной системы регулирования промышленных химических веществ, а также шагам по организации Глобального форума. Глобальный форум поможет содействовать: систематической оценке химических веществ во всем мире; развитию основных национальных и региональных систем регулирования химических веществ во всем мире; осуществлению новой рамочной программы ООН по рациональному регулированию химических веществ и отходов на период после 2020 года; обмену знаниями в области рационального регулирования химических веществ для всех стран. Предполагается, что Глобальный форум продлится 2 дня и пройдет 3-4 ноября 2020 года в штаб-квартире ОЭСР в Париже, Франция, параллельно с 61-м совместным совещанием, которое состоится 4-5 ноября 2020 года. Мероприятие позволит участникам: обмениваться опытом и передовой практикой в создании и внедрении системы экономически эффективного управления промышленными и потребительскими химическими веществами, в частности в отношении кадастров химических веществ и правовых и институциональных рамок; предоставить знания о последних достижениях в области методологий оценки сложных случаев, таких как риски от комбинированного воздействия не-

скольких химических веществ; создать рабочие группы в области рационального управления химическими веществами и отходами. Глобальный форум будет также содействовать развитию основных национальных и региональных систем регулирования химических веществ во всем мире; систематической оценке химических веществ во всем мире.

6. Документ о расширении взаимного признания данных применительно к

вычислительным методам. Новые методы *in vitro*, *in chemico* и *in silico* предлагаются для тестирования химических веществ в качестве автономных методов и должны использоваться в комбинации для прогнозирования все более сложных конечных точек. На сегодняшний день руководящие принципы ОЭСР по испытаниям описывают процедуры оценки химического воздействия с использованием одного метода. Испытуемые химические вещества добавляются в испытательную систему и наблюдаются эффекты. Однако в настоящее время ОЭСР располагает предложениями в отношении руководящих принципов, использующих комбинированные методы. Методы (т. е. источники информации) могут комбинироваться по-разному и, таким образом, вносить потенциальную вариабельность в подходы к оценке химических эффектов и интерпретации полученных данных. Чтобы избежать этой потенциальной изменчивости, ОЭСР начала работу по определению источников информации и процедур интерпретации данных для методов, используемых в сочетании для прогнозирования химического воздействия на определенную конечную точку. Внедрение в практику научно-практических исследований Роспотребнадзора новых методов *in vitro*, *in chemico* и *in silico* для тестирования химических веществ в качестве автономных методов и их использование в комбинации позволит обеспечить получение репрезентативных результатов исследования, признаваемых на национальном, региональном и международном уровнях. Проектами документов второго уровня ТР ЕАЭС «О безопасности химической продукции» (ТР 041/2017) для оценки опасности предусмотрено использование приоритетных по объему информации баз данных, в также альтернативных методов ОЭСР.

7. Деятельность ОЭСР по определению приоритетов будущей работы по пер- и полифторированным алкильным веществам (ПФАС). Результаты работы в этом направлении актуальны для государств – сторон Стокгольмской и Роттердамской конвенций, т.к. данные группы веществ являются кандидатами для включения в конвенции в целях их дальнейшего регулирования. Следует

отметить, что в Российской Федерации данная группа веществ не производится, но может ввозиться из-за рубежа, преимущественно из Китая.

8. Проект руководства, разработанный Экспертной группой по наилучшим доступным технологиям (BAT). В настоящее время в Российской Федерации осуществляется разработка нормативно-правовой базы по внедрению наилучших доступных технологий. Распоряжением Правительства РФ №398-р от 19.03.2014 года утвержден комплекс мер, направленных на отказ от использования устаревших и неэффективных технологий, переход на принципы НДТ и внедрение современных инновационных технологий. В связи с тем, что в области охраны природы используются гигиенические нормативы химических, физических и биологических факторов в среде обитания человека, разработка которых входит в сферу ответственности Роспотребнадзора в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 30.06.2004 N 322 (ред. от 24.04.2018) «Об утверждении Положения о Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека», Роспотребнадзор принимает участие в деятельности по переходу на принципы НДТ.

9. Итоги Конференции «Регулирование внешне применяемых dsРНК-продуктов для борьбы с сельскохозяйственными вредителями», которая состоялась 10-12 апреля 2019 года.

В связи с растущей обеспокоенностью по поводу использования химических пестицидов из-за их токсичности, стойкости в окружающей среде и того факта, что они могут быть неизбежными и подавлять не только предполагаемых вредителей, но и полезные организмы, такие как опылители, все большее число компаний и исследователей изучают альтернативные стратегии борьбы с вредителями. Один из таких методов включает использование небольших молекул рибонуклеиновой кислоты (РНК). Принимая во внимание перспективность использования продуктов биотехнологии, государственные органы проявляют озабоченность потенциальными рисками, связанными с внедрением в экономику инновационной продукции.

10. Проект Программы «Окружающая среда, здоровье и безопасность» на 2021-2024 годы и определение приоритетов. Ожидается, что в период с 2017 по 2060 год ежегодные глобальные продажи химических веществ вырастут в четыре раза. Производство в странах ОЭСР в настоящее время составляет более 50% от общемирового объема, возлагая основную ответственность за безопасность химических веществ и химических продуктов, имеющих на

внутреннем рынке, и все больше за продукцию, продаваемую на международном уровне, на страны ОЭСР и их химические отрасли. Научные разработки в области выявления и оценки воздействия химических веществ и продуктов современной биотехнологии на здоровье человека и окружающую среду были существенными в последние годы и будут продолжаться в будущем. Страны стремятся интегрировать результаты применения этих новых инструментов, когда они соответствуют их нормативным потребностям, в свои процессы принятия решений. Многие страны-члены ОЭСР изменили существующие программы, создали или находятся в процессе создания более масштабных программ для отбора или тестирования, оценки и управления большим количеством химических веществ в более короткие сроки. Это лишь усиливает необходимость в совместной работе, проводимой в ОЭСР, в частности в распределении бремени тестирования, избежание дублирования работы и оптимизации результатов при ограничении необходимых ресурсов. Кроме того, по мере того как страны повышают производительность ресурсов и переходят к циклической экономике, необходимо согласовывать политику в отношении химических веществ и отходов, чтобы обеспечить возможность использования вторичного сырья (например, пластика, содержащего добавки) без ущерба для здоровья человека и окружающей среды. Работа ОЭСР в этой области, таким образом, способствует достижению Целей устойчивого развития (ЦУР). Регулирование химических веществ четко отражено в ряде целей и задач, в том числе касающихся здравоохранения, водоснабжения и ответственного потребления и производства. В Российской Федерации в соответствии с национальными целями и задачами вопросы благополучия населения являются одними из первоочередных. Усилия направлены на обеспечение населения РФ доброкачественными продуктами питания, питьевой водой, на минимизацию загрязнения атмосферного воздуха.

В рамках повестки дня заседания по обмену между странами современными достижениями по регулированию химических веществ делегацией РФ был сделан доклад о деятельности России по подготовке вступление в силу ТР ЕАЭС «О безопасности химической продукции» (ТР 041/2017).

*Директор ФБУЗ РПОХБВ
Роспотребнадзора
Х.Х.Хамидулина*