



СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Ермолаева Е.Е., Гончаров Н.В., Радилов А.С., Глашкина Л.М., Кузнецов А.В., Миндукшев И.В., Авдонин П.В., Добрылко И.А., Рембовский В.Р. Ингибирование эстераз и функциональная активность макрофагов, тромбоцитов, эндотелия при низкоуровневом воздействии диизопропилфторфосфата и фосфакола .....	2
Зобов В.В., Ланцова А.В., Зобов А.В., Акамин В.Д., Галиметдинова И.В., Михайлов А.С., Горбунов С.М., Резник В.С. Токсичность и терапевтическая широта 1-[ω-(замещенный бензилдиалкиламмонно)алкил]-3,6-диметилурацилбромидов .....	7
Бушма К.М., Кизюкевич Л.С., Бушма М.И., Спас В.В. Роль индивидуальных особенностей строения почек в предрасположенности кроликов с гидронефрозом к нефротоксичности аминогликозидов на примере гентамицина .....	11
Палагина И.А., Кудря М.Я., Козарь В.В., Кудря А.В. Особенности метаболических и иммунологических изменений в организме крыс при субхроническом воздействии антидиабетических средств .....	16
Лобанов А.В., Хохлова О.Н., Захарова Л.А., Зарайская И.Ю., Мурашев А.Н. Модель для анализа нейротоксического действия на эмбриональное развитие по оценке соматосенсорного созревания у мышей .....	22
Масленников А.А., Тобольская-Поспелова М.М., Ермилова Э.С. Экспериментальное обоснование предельно допустимой концентрации зомана в атмосферном воздухе населенных мест .....	25
Шахназаров М.А., Шахназаров А.М., Расулов М.Т. Морфологические и гистохимические изменения печени при ацетатной язве желудка и хроническом воздействии пестицида — хлорофоса .....	29
Еще одно назначение токсикологии или к истории злонамеренных отравлений .....	33
Съезды, конференции, совещания .....	37
Рецензии .....	38
Нае спрашивают .....	40
<b>БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ</b>	
Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ .....	41
Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам .....	47
Новые гигиенические нормативы .....	48
Информация .....	50
Перечень химических и биологических веществ, прошедших государственную регистрацию (сообщение № 80) .....	52

Yermolayeva Ye.Ye., Goncharov N.V., Radilov A.S., Glashkina L.M., Kuznetsov A.V., Mindukshiev I.V., Avdonin P.V., Dobrylko I.A., Rembovskiy V.R. Inhibition of esterase and functional activity of macrophages, trombocytes, endothelium at low exposure to diisopropylfluoro phosphate and phosphakol .....	2
Zobov V.V., Lantsova A.V., Zobov A.V., Akamsin V.D., Galyametdinova I.V., Mikhaylov A.S., Gorbunov S.M., Reznik V.S. Toxicity and therapeutic broadness of 1-[ω-(substituted benzyl dialkyl ammonio)alkyl]-3,6-dimethyluracil bromides .....	7
Bushma K.M., Kizukevich L.S., Bushma M.I., Spas V.V. Role of individual particularities of kidney structure in predisposition of rabbits with hydronephrosis to nephrotoxicity induced by amino glycosides on the example of gentamicin .....	11
Palagina I.A., Kudrya M.Ya., Kozar V.V., Kudrya A.V. Singularities of metabolic and immunologic changes in the rat organism at sub-chronic exposure to anti-diabetic preparations .....	16
Lobanov A.V., Khokhlova O.N., Zakharova L.A., Zarayskaya I.Yu., Murashov A.N. Pattern for analyzing neurotoxic effect on the embryonic development basing on somatosensory maturation in mice .....	22
Maslennikov A.A., Tobolskaya-Pospelova M.M., Yermilova E.S. Experimental substantiation of Maximum allowable concentration of Soman in atmospheric air of residential settings .....	25
Shakhnazarov M.A., Shakhnazarov A.M., Rasulov M.T. Morphologic and histochemical changes in liver at acetic ulcer and chronic exposure to the pesticide chlorophos .....	29
One more destination of toxicology or about history of ill-intentioned poisonings .....	33
Congresses, conferences, meetings .....	37
Reviews .....	38
We are queried .....	40
<b>BULLETIN OF THE RUSSIAN REGISTER OF POTENTIALLY HAZARDOUS CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES</b>	
News on toxicity and hazard of chemical and biological substances .....	41
New publications on toxicology and related disciplines .....	47
New hygienic standards .....	48
Information .....	50
List of chemical and biological substances registered on the state level (list № 80) .....	52

УДК 612.014.46:546.185

Е.Е.Ермолаева<sup>1</sup>, Н.В.Гончаров<sup>1</sup>, А.С.Радилов<sup>1</sup>, Л.М.Глашкина<sup>1</sup>, А.В.Кузнецов<sup>1</sup>, И.В.Миндукшев<sup>2</sup>,  
П.В.Авдониин<sup>3</sup>, И.А.Добрылко<sup>1</sup>, В.Р.Рембовский<sup>1</sup>**ИНГИБИРОВАНИЕ ЭСТЕРАЗ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ  
МАКРОФАГОВ, ТРОМБОЦИТОВ, ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ НИЗКОУРОВНЕВОМ  
ВОЗДЕЙСТВИИ ДИИЗОПРОПИЛФТОРФОСФАТА И ФОСФАКОЛА**<sup>1</sup>НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России<sup>2</sup>НИИ эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, С.-Петербург<sup>3</sup>НИИ биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва

Предпринята попытка определения вклада циркуляторной гипоксии, клеточного звена гемостаза и нейротоксиэстеразы в реакцию организма на низкоуровневое воздействие фосфорорганических соединений (ФОС). В эксперименте изучены диизопротилфторфосфат, вызывающий отставленную нейропатию у человека и фосфакол (параоксон), не обладающий подобным эффектом. Проведено исследование активности эстераз холинэргической и нехолинэргической природы в плазме, в мозгу и в тромбоцитарной фракции крови; способности перитонеальных макрофагов к генерации активных форм кислорода; агрегационной активности тромбоцитов; влияния на функцию эндотелия сосудов. Полученные данные свидетельствуют о развитии неспецифической резистентности организма при хроническом действии ФОС. В то же время, очевидны качественные и количественные отличия в характере действия различных ФОС на разные звенья этого процесса.

**Ключевые слова:** ФОС, патогенез, тест-модели, эстеразы, клетки, эндотелий.

**Введение.** Токсическое действие фосфорорганических соединений (ФОС), обусловленное антихолинэстеразными и неантихолинэстеразными патологическими реакциями, представлено в хорошо известных изданиях [1-5]. Однако существует проблема диагностики интоксикации ФОС в отставленные сроки, а также при отравлении малыми дозами вследствие недостаточной эффективности традиционного метода, ориентированного только на активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Из литературы известно, что каждая сериновая гидролаза имеет свою специфическую функцию и каждое ФОС имеет уникальный ингибиторный профиль, т. е. работает принцип: структура – активность [6]. При хроническом действии низких концентраций некоторых ФОС более чувствительными, по сравнению с АХЭ, оказываются карбоксилэстеразы (КЭ) плазмы, печени и мозга [7-10]. Известно о выраженной чувствительности к ФОС карбоксилэстераз в семенниках [11], в легких [12]. Из молекулярных мишеней, кроме традиционно используемых холинэстераз, были испытаны сериновые эстеразы, из которых карбоксилэстераза и нейротоксиэстераза рассматривались в качестве испытываемых белковых моделей.

Еще один аспект проблемы заключается в том, что классическая молекулярная мишень ФОС–АХЭ – временно или постоянно экспрессирована в тканях, отличных от холинэргических синаптических окончаний. Кроме общеизвестного несинаптического обладателя АХЭ – эрит-

роцита – этот фермент был обнаружен в развивающихся нехолинэргических нейронах во время роста аксона, а также в дофаминэргических нейронах черной субстанции и хромаффинных клетках надпочечников [13], в области базальной мембраны капиллярного эндотелия [14]. В то же время было показано, что основу структурных изменений при отравлениях ФОС составляют проявления васкулита, сопровождающиеся демиелинизацией нервных проводников [15]. Наличие мускариновых рецепторов на эндотелиальных клетках свидетельствует в пользу представлений об эндотелии как своеобразной холинэргической структуре, воздействие на которую осуществляется не через нервные волокна, а через кровеносные сосуды [16]. Вазомоторная реакция на адренэргические стимулы зависит от активности NO-синтазной системы эндотелия, а также опосредована  $\alpha$ -1 и  $\alpha$ -2 рецепторами эндотелиальных клеток [17, 18]. Еще более важным представляется присутствие в эндотелиальных клетках цитохрома P<sub>450</sub> [19]. Одним из наиболее чувствительных методов оценки функциональной активности эндотелия, использованных в нашей работе, является исследование эндотелий-зависимой релаксации сосудов [20].

Среди наиболее изученных и доступных функциональных моделей в экспериментальной биологии и медицине является тромбоцитарная фракция крови. Помимо ведущей роли в системе гемостаза, тромбоциты играют немаловажную роль в иммунных реакциях, являясь свое-

образным посредником между этими двумя физиологическими системами [21]. Ранее высказывались предположения о прямом влиянии ФОС на гемостаз и систему комплемента, учитывая обилие в этих системах сериновых протеаз [22, 23], однако мы не обнаружили в литературе работ, посвященных экспериментальному исследованию хронического действия субсимптоматических концентраций ФОС на эти системы.

Моделью клеточного ответа на воздействие химического фактора является система мононуклеарных фагоцитов, из которой наиболее экспериментально доступным объектом являются перитонеальные макрофаги. Основную функциональную особенность данной клеточной популяции составляет фагоцитарная активность, важнейшим элементом которой является генерация активных форм кислорода (АФК) [24]. АФК являются распространенными продуктами общего обмена, а также генерируются специализированной системой НАДФН-оксидазы. Образование профессиональными фагоцитами больших количеств АФК в ответ на действие специфических активаторов (один из наиболее распространенных активаторов – fMLP, или формил-метионил-лейцил-фенилаланин) получило название «окислительного взрыва». В нашей работе для изучения влияния ФОС на НАДФН-оксидазную систему была проведена оценка функционального состояния макрофагов.

В настоящем исследовании предпринята попытка определения вклада циркуляторной гипоксии, клеточного звена гемостаза, нейротоксиэстеразы (НТЭ) в реакцию организма на низкоуровневое воздействие ФОС.

**Материалы и методы исследования.** В экспериментах были изучены диизопропилфторфосфат (ДФФ), вызывающий отставленную нейропатию у человека, и фосфакол (параоксон, п-нитрофениловый эфир диэтилфосфорной кислоты), не обладающий подобным эффектом. Исходный 1%-й раствор фосфакола и ДФФ готовили на диметилсульфоксиде (ДМСО), затем объем разводили водой до необходимых концентраций. При моделировании хронического воздействия белые крысы-самцы получали фосфакол и ДФФ в дозах  $10^{-2}$  мг/кг ( $1/100 DL_{50}$ ) и  $10^{-4}$  мг/кг ( $1/10000 DL_{50}$ ). Внутрижелудочные затравки проводили в течение 3 месяцев, 5 раз в неделю. Контрольным животным вводили питьевую воду. Во всех группах условия содержания и рацион были идентичными.

*Исследование степени ингибирования эстераз.* Измерение активности холинэстераз в плазме и эритроцитах проводили по методу Элмана [25]. Активность нейротоксиэстеразы в плазме, в мозгу и в тромбоцитарной фракции (PRP, Platelet-

Rich-Plasma) определяли с использованием в качестве субстрата фенолвалерата [26]. Активность фермента в ткани головного мозга рассчитана на мг белка, определяемого по методу Лоури [27].

*Исследование функционального состояния макрофагов.* Перитонеальные макрофаги получали промыванием брюшной полости мышей культуральной средой RPMI-1640 с последующим изучением [24]. Клетки преинкубировали с различными концентрациями ФОС в течение 5–10 мин перед активацией окислительного взрыва хемотактическим пептидом fMLP (формил-метионил-лейцил-фенилаланин). Динамику окислительного взрыва фиксировали на флуоресцентном микроскопе ЛЮМАМ с помощью флуоресцирующего зонда – восстановленного дихлорфлуоресцеин-диацетата (DCF). Запись и обработка сигнала проведена с помощью программ Mgraph и ROMan.

*Исследование тромбоцитарного звена гемостаза.* Забор крови у крыс, предварительно наркотизированных уретаном в дозе 1,2 г/кг, осуществляли из сонной артерии. В качестве антикоагулянта использовали 3,2% раствор цитрата натрия с апиразой (Sigma) 1 мг/мл, pH 6,0 в соотношении кровь:антикоагулянт 9:1. Обогащенную тромбоцитами плазму получали центрифугированием крови в течение 10 мин при 200g. Функциональную активность тромбоцитов исследовали методом малоуглового светорассеяния в углу  $2^\circ$  на приборе «Лайт-Скан» (НПФ «Люмекс», СПб) [28, 29]. Эксперименты проводили в солевой среде, содержащей: 140 mM NaCl; 10 mM Трис-HCl; 1 mM CaCl<sub>2</sub>; pH 7,8; концентрация тромбоцитов не превышала  $10^7$  кл/мл. Активацию процесса осуществляли с помощью АДФ в диапазоне концентраций  $10^{-7}$ – $10^{-5}$  М. Регистрацию интенсивности светорассеяния осуществляли в программе «Etongue».

*Исследование функциональной активности эндотелия* проведено на изолированных кольцах (4–5 мм) участка нисходящей аорты [20]. Препараты были помещены в термостатируемый оксигенатор и омывались раствором Кребса, через раствор пропускали карбоген (95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>). Для записи изометрического давления использовали датчики «Transducer UI-20GR». Через 4-х канальный усилитель 6M81 сигналы выводились на 4-х канальный самописец «Н3030-4». На кольца аорты сначала воздействовали норадреналином (1–1000 нМ) для получения эффекта сокращения (преконтракции), на фоне которого затем воздействовали карбахолом (10–10000 нМ). Карбахол через мускариновые рецепторы эндотелиальных клеток вызывает мобилизацию внутриклеточного кальция, который активирует NO-синтазу. Образующийся при этом NO активи-

вирует гуанилатциклазу гладкомышечных клеток кровеносного сосуда и вызывает расслабление предварительно сокращенных сосудов.

Результаты исследования обработаны методами вариационной статистики с использованием программы MS Excel.

**Результаты исследования и обсуждение. Оценка степени ингибирования эстераз.** В хроническом эксперименте после 3-месячной затравки крыс фосфаколом и ДФФ остаточная активность НТЭ в плазме была значительно ниже остаточной активности других эстераз, в том числе АХЭ эритроцитов (рис. 1). Через 2 месяца наблюдали снижение НТЭ в мозгу крыс, которое коррелировало со снижением уровня активности НТЭ в плазме (рис. 1), в то время как активность других эстераз в плазме оставалась без изменений.

Через 4 месяца наблюдат более выраженное снижение активности холинэстераз (12–40%), которое нормализовалось к 6-му месяцу после

прекращения интоксикации. Через 6 месяцев под действием ДФФ наблюдали снижение активности НТЭ (20–30%) только в тромбоцитарной фракции плазмы.

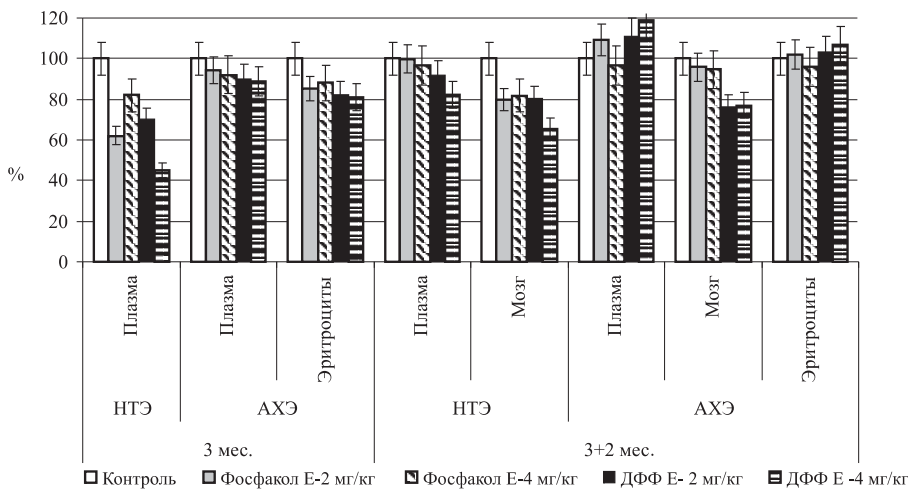
Согласно полученным данным, НТЭ плазмы и мозга чувствительна к хроническому воздействию не только «нейропатического» агента ДФФ, но также к действию фосфакола. Это свидетельствует о том, что в процессе интоксикации и в последующий период в качестве молекулярных мишеней могут выступать эстеразы, как холинэргической, так и нехолинэргической природы. Дольше всего ингибирующий эффект сохранялся в тромбоцитарной фракции (PRP).

**Оценка функциональной активности макрофагов.** Функция макрофагов чрезвычайно разнообразна и не исчерпывается только возможностями «клетки-мусорщика», а включает ряд важных регуляторных функций, благодаря которым макрофаг занимает ключевые позиции во многих биологически значимых процессах и может быть

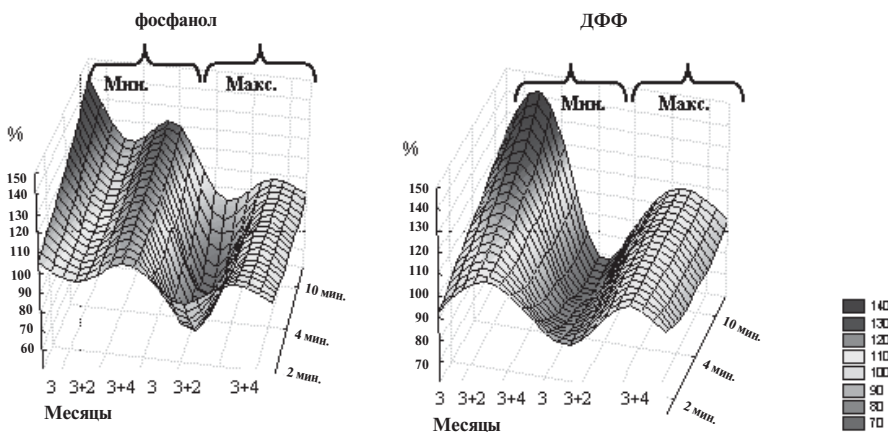
вполне соотнесен к «клеткам-диспетчерам» [24]. Способность перитонеальных макрофагов к генерации активных форм кислорода (АФК) носит название «окислительный взрыв».

Исследование генерации активных форм кислорода в опытах *in vitro* выявило выраженное влияние относительно низких концентраций ФОС ( $\leq 10^{-4}$  М) при отсутствии эффектов от действия более высоких концентраций ( $\leq 10^{-2}$  М). Хроническое действие  $10^{-4}$  мг/кг ДФФ сначала усиливает «окислительный взрыв» (через 2 месяца после окончания затравок) с последующим его подавлением через 4 месяца. Хроническое действие фосфакола ( $10^{-4}$  мг/кг) проявляется всплеском активности после 3-х месяцев воздействия с последующим незначительным снижением активности «окислительного взрыва», но сохранением повышенной активности до конца экспериментов (рис. 2).

Находящиеся на поверхности мембраны макрофагов антигенные детерминанты свидетельствуют о строго определенных функциях макрофагов в иммуногенезе. Реакция мак-



**Рис. 1. Сравнительная активность эстераз после 3-х месяцев интоксикации крыс фосфаколом и ДФФ и через 2 месяца после окончания интоксикации**  
# –  $P < 0,1$ ; \* –  $P < 0,05$

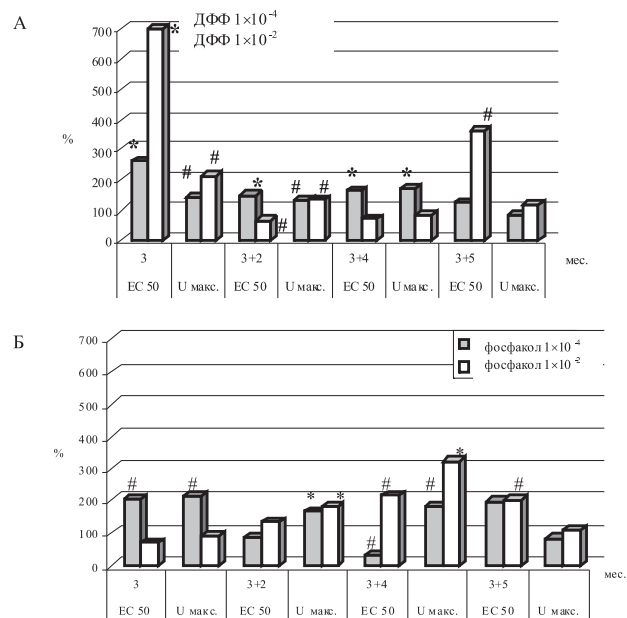


**Рис. 2. Уровень генерации активных форм кислорода макрофагами мышей после 3-х месяцев, через 2 и 4 месяца спустя окончания хронического воздействия фосфакола и ДФФ в дозах  $10^{-4}$  мг/кг (мин.) и  $10^{-2}$  мг/кг (макс.) 3-х месячной экспозиции**

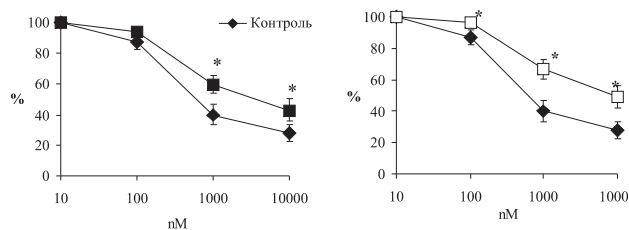
рофагов при действии повышенных доз ФОС позволяет предполагать угнетение антигенпрезентирующей функции А-клеток, к которым относятся, помимо макрофагов и моноцитов, эндотелиальные клетки. Известно, что соединения, подавляющие активность А-клеток, в большинстве случаев вызывают супрессию иммунного ответа и антигены в таких случаях могут выступать в качестве толерогенов. Вероятно, именно поэтому в экспериментах с различными ФОС наблюдается более выраженное подавление физиологических функций при хроническом воздействии меньших концентраций ФОС, что вовсе не означает меньшую вредность больших концентраций.

*Оценка функционального состояния тромбоцитов.* Исследования кинетических параметров агрегации тромбоцитов проводили сразу после 3 месяцев введения фосфакола и ДФФ ( $1 \cdot 10^{-4}$  мг/кг и  $1 \cdot 10^{-2}$  мг/кг) и «восстановительных» интервалов в 2, 4 и 5 месяцев после прекращения воздействия (рис. 3).

Внутрижелудочное 3-месячное введение ДФФ и фосфакола лабораторным животным и последующее наблюдение (2, 4 и 5 месяцев после прекращения воздействия) показало в обоих случаях, что имеет место выраженное нарушение функциональной активности тромбоцитов с последующим длительным периодом восстановления кинетических параметров агрегации. Через 3 месяца хронической интоксикации ДФФ вызывал значительное повышение  $EC_{50}$ , что мы так-



**Рис. 3.** Относительные изменения среднемаксимальной эффективной концентрации активатора ( $EC_{50}$ ) и максимальной скорости ( $U_{max}$ ) агрегации тромбоцитов крыс после внутрижелудочного воздействия ДФФ (А) и фосфакола (Б) в дозах  $1 \cdot 10^{-2}$  (макс) и  $1 \cdot 10^{-4}$  (мин) мг/кг сразу после 3-х месяцев воздействия, через 2, 4 и 5 месяцев «восстановительного» периода  
\* –  $P < 0,1$ ; \* –  $P < 0,05$



**Рис. 4.** Влияние хронической интоксикации фосфаколом (А) и ДФФ (Б) (10 мг/кг) на эндотелий-зависимую релаксацию аорты крыс

\* –  $P < 0,05$

же наблюдали в эксперименте с VX [30-32]. В отличие от действия ДФФ и VX, фосфакол не оказывал заметного влияния на чувствительность тромбоцитов, но в большей степени увеличивал скорость агрегации, что объяснимо разным характером их действия [33] (рис. 3).

*Оценка функционального состояния эндотелия сосудов.* Известно, что острое отравление животных ФОС сопровождается поражением кровеносных сосудов, главным образом за счет гиперактивации мускариновых рецепторов эндотелия избытком ацетилхолина. Изучение этой особенности ФОС-интоксикации послужило основанием для создания концепции дистантной холинергической регуляции через кровеносные сосуды [34]. Учитывая стратегическое значение эндотелия и огромную площадь поверхности кровеносных сосудов (по некоторым оценкам – до  $10000 \text{ м}^2$  [35]), можно полагать, что эндотелий сосудов может быть одной из основных мишеней ФОС.

Эндотелий-зависимая релаксация выражена при действии ДФФ по сравнению с действием фосфакола в дозах 10 мг/кг (рис. 4), а при интоксикации в дозах 0,1 мг/кг только ДФФ оказал значимое влияние на эндотелий.

Степень преко́нстрикции норадреналином при интоксикации ДФФ достоверно отличается от контроля: меняется не только степень релаксации после преко́нстрикции, но и фоновый тонус сосудов, динамика процесса, чего не наблюдается при интоксикации фосфаколом (рис. 5).

В конце второго месяца восстановительного периода подавление эндотелиальной функции оказалось еще более выраженным при воздействии ДФФ и фосфакола в дозах  $10^{-2}$  мг/кг, тогда как у животных, получавших дозу  $10^{-4}$  мг/кг, наблюдалась тенденция к восстановлению функции. Через 5 месяцев после окончания воздействия восстановление произошло только в группах, принимавших фосфакол в дозах  $10^{-4}$  мг/кг, тогда как у животных, принимавших ДФФ, изменения были достоверно выражены в равной степени в обеих группах.

Наблюдаемые процессы изменения функционального состояния тромбоцитов и эндотелия

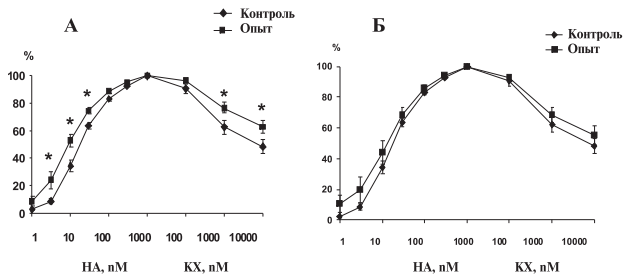


Рис. 5. Влияние хронической интоксикации 10 мкг/кг ДФФ (А) и фосфакола (Б) на общую динамику преко́нстракции и релаксации аорты крысы

сосудов при воздействии ФОС, очевидно, могут иметь системный характер микроангиопатий в компенсаторной фазе, когда проявлению клинически ярко выраженных коагуляционных синдромов препятствуют компенсаторные механизмы: образование капиллярных анастомозов, цитологические механизмы «самозащиты» тромбоцитов, эндотелиальные и плазменные тромболитические протеазы и молекулярные эффекторы, обеспечивающие отрицательную обратную связь. В случае рассматриваемого клеточного звена гемостаза массивной агрегации тромбоцитов в наибольшей степени могут препятствовать эндотелиальный простагландин ( $\text{PGI}_2$ ), эндотелиальная и тромбоцитарная оксид азота. Защитная роль эндотелия чрезвычайно многогранна (синтез  $\text{PGI}_2$ , NO, CO,  $\text{PGE}_2$ , t-PA – тканевого активатора плазминогена). В то же время поврежденный эндотелий генерирует главным образом деструктивные и воспалительные биомолекулы: эндопероксиды, супероксид-анион, пероксинитрит, ингибитор активатора плазминогена (PAI-1).

**Заключение.** Молекулярной мишенью для фосфорорганических отравляющих веществ являются эстеразы различного генеза, локализации и функциональной значимости.

Изменения активности эстераз при длительной интоксикации носят фазовый характер с преобладающим подавлением НТЭ в отдаленные сроки после отравления.

Эндотелий, в случае хронической низкоуровневой интоксикации, является одной из главных тканевых/клеточных мишеней ФОС. Фосфакол и особенно ДФФ при длительной интоксикации подавляют эндотелий-зависимую релаксацию сосудов. ДФФ, кроме того, обуславливает нарушение преко́нстракции сосудов.

Чувствительными тест-моделями в лабораторной практике при оценке низкоуровневого воздействия ФОС могут служить тромбоциты и макрофаги. Развитие патогенеза хронического отравления малыми дозами фосфорорганических отравляющих веществ обусловлено двумя взаимодополняющими факторами: развитием иммунореактивных процессов и тканевой/циркуляторной гипоксией.

Данные, полученные в экспериментах, свидетельствуют о развитии неспецифической резистентности организма при хроническом действии ФОС. В то же время, очевидны качественные и количественные отличия в характере действия различных ФОС на разные звенья этого процесса.

#### Список литературы

1. Куценко С.А. Основы токсикологии. – СПб.: Фолиант, 2004 – 720 с.
2. Сондерс В. Химия и токсикология органических соединений фосфора и фтора. – М.: Мир, 1961. – 190 с.
3. Каган Ю.С. Фосфорорганические соединения // Вредные вещества в промышленности. – Л.: Химия, 1977. – С. 141-210.
4. Голиков С.Н., Лактионов С.И. Руководство по токсикологии отравляющих веществ. – М.: Медицина, 1972. – С. 78-182.
5. Toxicology of organophosphate and carbamate compounds. Edited by R. Gupta. – New York: Elsevier, 2006. – 764 p.
6. Casida J.E., Quistad G.B. // Chem Biol Interact., 2005. – V. 157-158. – P. 277-83.
7. Ray D.E., Richards P.G. // Toxicol. Lett., 2001. – V. 120. – № 1-3. – P. 343-351.
8. Chemnitius J.M., Zech R. // Mol. Pharmacol., 1983. – V. 23. – P. 717-723.
9. Jakanovic M. et al. // Arch. Toxicol., 1996. – V. 70. – P. 444-450.
10. Chemnitius J.M. et al. // Chem. Biol. Interact., 1993. – V. 87. – № 1-3. – P. 239-244.
11. Juwell W.T., Miller M.J. // Toxicol. Appl. Pharmacol., 1998. – V. 149. – P. 226-234.
12. Krishnasamy S. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun., 1997. – V. 235. – P. 180-184.
13. Appleyard M.E. // Biochem. Soc. Trans., 1994. – V. 22. – P. 749-755.
14. Lan C.T. et al. // Anat. Embryol. (Berl.), 1996. – V. 194. – № 2. – P. 177-185.
15. Плужников Н.Н. и др. Труды научно-практической конференции, посвященной 40-летию НИИ ГПЭЧ / ФУ Медбиоэкстрем, НИИ ГПЭЧ. – СПб., 2002. – С. 407-408.
16. Прозоровский В.Б. Материалы Всесоюзной научно-практической конференции 28–29 марта 2000 г. – СПб., 2000. – С. 268-269.
17. Bruck H. et al. // J. Hypertens, 2001. – V. 19(5): – P. 907-11.
18. Tuttle J.L., Falcone J.C. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 2001. – V. 281. – № 2. – P. 873-881.
19. Delaunois A. et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol., 1992. – 116(2). – P. 161-169.
20. Furchgott R.F., Zawadski J.V. // Pharmacologist, 1979. – P. 21-27.
21. Spycher M.O., Nydegger U.E. // Infusionsther. Transfusionsmed, 1995. – V. 22. – № 1. – P. 36-43.
22. O'Neill J.J. // Fundam. Appl. Toxicol., 1981. – V. 1. – P. 154-160.

23. Ray D.E. *Organophosphorus esters: An evaluation of chronic neurotoxic effects.* – Leicester, 1998. – 62 p.

24. Gamaley I.A., Klyubin I.V. // *Int. Rev. Cytol.*, 1999. – V. 188. – P. 203–255.

25. Ellman G.L. et al. // *Biochem. Pharmacol.*, 1961. – V. 7. – P. 88–95.

26. Johnson M.K. // *Biochem. J.*, 1969. – V. 111. – P. 487–495.

27. Досон Р. и др. / *Справочник биохимика.* – М.: Мир, 1991. – 544 с.

28. Деркачев Э.Ф. и др. // *Способ исследования активации и агрегации тромбоцитов. Патент RU 2108579 C16 G01 N 33/49*, 1998. – Б.И. № 10 (II). – С. 298.

29. Mindukshev I. et al. // *IOS Press Spectroscopy*, 2005. – 19. – P. 247–257.

30. Goncharov N. et al. // In: «*Ecological Risks Associated with the Destruction of Chemical Weapons*».

Eds.V. Kolodkin and W. Ruck – Netherlands: Springer, 2006. – P. 297–303.

31. Goncharov N.V. et al. // In: «*Ekonomika, logistika a ekologie v ozbrojenych silach III*». *Sbornik z mezinarodni vedecke konference.* – Brno, 29–30.04.2003. – P. 63–70.

32. Ермолаева Е.Е. и др. // *Материалы 1-го съезда врачей медико-профилактического профиля вооружённых сил Российской Федерации.* – СПб., 2002. – С. 470–471.

33. Сакаев М.Р. Дис.... канд. биол. наук. – СПб.: СПбХФА, 2000. – 114 с.

34. Скопичев В.Г. и др. // *Морфология*, 2000. – Т. 117. – № 4. – С. 66–69.

35. Иванов К.П. *Биологическое окисление и его обеспечение кислородом.* – СПб.: Наука, 1993. – 272 с.

Материал поступил в редакцию 16.05.07.

Ye.Ye.Yermolayeva<sup>1</sup>, N.V.Goncharov<sup>1</sup>, A.S.Radilov<sup>1</sup>, L.M.Glashkina<sup>1</sup>, A.V.Kuznetsov<sup>1</sup>, I.V.Mindukshev<sup>2</sup>, P.V.Avdonin<sup>3</sup>, I.A.Dobrylko<sup>1</sup>, V.R.Rembovskiy<sup>1</sup>

#### INHIBITION OF ESTERASE AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF MACROPHAGES, TROMBOCYTES, ENDOTHELIUM AT LOW EXPOSURE TO DIISOPROPYLFLUORO PHOSPHATE AND PHOSPHAKOL

<sup>1</sup>Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, St.Petersburg

<sup>2</sup>I.M.Sechenov Research Institute of Evolutional Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

<sup>3</sup>N.K.Koltsov Research Institute of Development Biology, Moscow

An attempt was made to determine contribution of circulatory hypoxia, a cellular chain of hemostasis and neurotoxiesterase to the response of organisms exposed to organophosphoric compounds at a low level. Diisopropylfluorophosphate inducing delayed neuropathy in humans and phosphakol (paraoxon) not having such an effect were studied in experiment. The following aspects were investigated: activity of esterase of cholinergic and non-cholinergic character in plasma, brain and thrombocytic fraction of blood; ability of peritoneal macrophages to generate oxygen active forms; aggregative activity of trombocytes; effect on the function of vessels endothelium. Data received show the development of non-specific resistance of the organism at chronic exposure to organophosphoric compounds. Along with it, qualitative and quantitative differences in the way of their action are evident at different stages of the process.

УДК 615.31:547.223

В.В.Зобов, А.В.Ланцова, А.В.Зобов, В.Д.Акамсин, И.В.Галяметдинова,  
А.С.Михайлов, С.М.Горбунов, В.С.Резник

#### ТОКСИЧНОСТЬ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ШИРОТА 1-[ω-(ЗАМЕЩЕННЫЙ БЕНЗИЛДИАЛКИЛАММОНИО)АЛКИЛ]-3,6-ДИМЕТИЛУРАЦИЛБРОМИДОВ

*Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Казанского научного центра РАН*

Ряд замещенных 1-(ω-диэтилбензиламмонийоалкил)-3,6-диметилурацилбромидов с антихолинэстеразным типом действия «умеренно-/малотоксичны» в опытах на мышах и «малотоксичны/практически нетоксичны» в опытах на дафниях. В тестах «бег на третбане» и «вращающийся стержень» (мышы, в/б) вещества, у которых урациловый фрагмент удален от алкиламмониевого фрагмента на расстояние 5–8 метиленовых групп, более безопасны, чем прозерин и BW284c51.

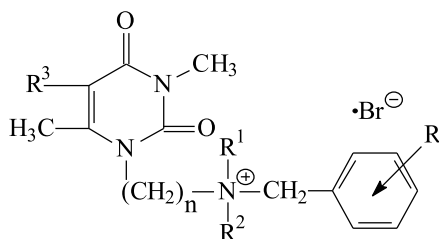
**Ключевые слова:** ингибиторы ацетилхолинэстеразы, токсичность, терапевтическая широта.

**Введение.** Производное 6-метилурацила, содержащее ортонитробензилдиэтилпентиламмо-

ниевый фрагмент при N<sub>3</sub>-атоме пиримидинового цикла, проявляет очень высокую избиратель-

ность действия и необратимость связывания по отношению к ацетилхолинэстеразе, тогда как его N<sub>1</sub>-изомер является типичным обратимым ингибитором обеих холинэстераз [1, 2]. При этом оба изомера в тестах с функциональной нагрузкой на млекопитающих демонстрируют более высокие, чем у известных ингибиторов холинэстераз, значения «широты миорелаксантного (мышечнорасслабляющего) действия» или, иначе, «терапевтической широты» DL<sub>50</sub>/DE<sub>50</sub> (около 20,0), а также более низкие значения токсичности (CL<sub>50</sub> более 50,0 мкМ) в отношении дафний [3] – наиболее чувствительного биообъекта экологической токсикологии [4, 5].

В продолжение исследований нами был изучен ряд новых N<sub>1</sub>-изомеров – замещенных 1-(ω-диэтилбензиламмонииоалкил)-3,6-диметилаурацилбромидов (соединения I-XVI) – на предмет выявления среди них веществ с высокими показателями как «фармакологической» (DL<sub>50</sub>/DE<sub>50</sub>), так и «экологической» (CL<sub>50</sub>, дафнии) безопасности.



соединения I-XVI

n = 4 (I, II), 5 (III-X), 6 (XI-XIII), 7 (XIV), 8 (XV, XVI).

R = *o*-NO<sub>2</sub> (I, II, VIII-XI, XIII-XV), *m*-NO<sub>2</sub> (III), *o*-CN (IV, XII, XVI), *m*-CN (V), *m*-CH<sub>3</sub> (VI), 3,4(-OCH<sub>2</sub>O-) (VII<sup>a</sup>).

R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = CH<sub>3</sub> (II), C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (I, III, IV-IX, XI, XII, XIV-XVI).

R<sup>1</sup> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sup>2</sup> = CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub> (X); R<sup>1</sup> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sup>2</sup> = n-C<sub>16</sub>H<sub>33</sub> (XIII).

R<sup>3</sup> = H (I-VII<sup>a</sup>), X-XVI), Cl (VIII), Br (IX).

<sup>a</sup>) – анион Cl<sup>-</sup>

#### Химические названия изученных соединений:

- 1-[4-(диэтил-*o*-нитробензиламмониио)бутил]-3,6-диметилаурацилбромид (I),
- 1-[4-(диметил-*o*-нитробензиламмониио)бутил]-3,6-диметилаурацилбромид (II),
- 1-[5-(диэтил-*m*-нитробензиламмониио)пентил]-3,6-диметилаурацилбромид (III),
- 1-[5-(диэтил-*o*-цианбензиламмониио)пентил]-3,6-диметилаурацилбромид (IV),
- 1-[5-(диэтил-*m*-цианбензиламмониио)пентил]-3,6-диметилаурацилбромид (V),
- 1-[5-(диэтил-*m*-метилбензиламмониио)пентил]-3,6-диметилаурацилбромид (VI),
- 1-[5-(диэтил-3,4-метилendioксибензиламмониио)пентил]-3,6-диметилаурацилхлорид (VII),

- 1-[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмониио)пентил]-3,6-диметил-5-хлорурацилбромид (VIII),
- 1-[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмониио)пентил]-5-бром-3,6-диметилаурацилбромид (IX),
- 1-[5-(аллил-*o*-нитробензиламмониио)пентил]-3,6-диметилаурацилбромид (X),
- 1-[6-(диэтил-*o*-нитробензиламмониио)гексил]-3,6-диметилаурацилбромид (XI),
- 1-[6-(диэтил-*o*-цианбензиламмониио)гексил]-3,6-диметилаурацилбромид (XII),
- 1-[6-(*o*-нитробензилцетилэтиламмониио)гексил]-3,6-диметилаурацилбромид (XIII),
- 1-[7-(диэтил-*o*-нитробензиламмониио)гептил]-3,6-диметилаурацилбромид (XIV),
- 1-[8-(диэтил-*o*-нитробензиламмониио)октил]-3,6-диметилаурацилбромид (XV),
- 1-[8-(диэтил-*o*-цианбензиламмониио)октил]-3,6-диметилаурацилбромид (XVI).

**Материалы и методы исследования.** Острую токсичность соединений при их внутрибрюшинном (в/б) введении определяли на нелинейных белых мышах обоего пола массой 19±2 г, а также на лабораторной культуре дафний *Daphnia magna* Straus в возрасте 18±6 ч. Для установления среднесмертельной дозы DL<sub>50</sub> (в мкмоль/кг) каждое соединение вводили 4 группам мышей (по 10 мышей на каждую дозу; n = 40); время наблюдения – 72 ч. Для установления среднесмертельной концентрации CL<sub>50</sub> (в мкмоль/л) 3 группы дафний помещали в растворы тестируемых соединений (по 30 дафний на каждую концентрацию; n = 90); время наблюдения – 48 ч. Предварительно тестировалась чувствительность культуры дафний к K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; величина CL<sub>50</sub><sup>24ч</sup> K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> находилась в пределах нормы (1,8 мг/л) [4]. По величине CL<sub>50</sub> на дафниях выносили первичное суждение об уровне «экологической безопасности» соединений. Симптоматика отравления соединениями при внутривенном их введении фиксировалась на кроликах-самцах породы «советская шиншилла» массой 3,0–3,5 кг.

В качестве показателей избирательности действия соединений на нервно-мышечную передачу были избраны среднеэффективные миорелаксантные дозы (DE<sub>50</sub>), полученные в тесте «бег на тредбане» (Treadmill, Nihon Kohden STS-7500A/CC-730DA, Япония; скорость протяжки ленты 1 км/ч) [6] и в тесте «вращающийся стержень» (Rota-rod treadmill; Ugo Basile, Италия; скорость вращения стержня 6 оборотов/мин) [7]. Для установления значений DE<sub>50</sub> каждое соединение вводили внутрибрюшинно 4 группам предварительно тренированных мышей (22,0±2,0 г; по 8 мышей на каждую дозу; n = 32) за 5 мин до начала выполнения физической нагрузки. В качестве критерия терапевтической широты (или «фармакологической безопасности») соединений использовали параметр



DL<sub>50</sub>/DE<sub>50</sub>. Контрольным мышам вводили физиологический раствор. Препаратами сравнения служили антихолинэстеразные средства – прозерина метилсульфат и BW284c51 (избирательный ингибитор ацетилхолинэстеразы; Sigma).

Обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента, а также с помощью программы ToxCalc™ v.5.0.23F (Tidepool Scientific Software; U.S. Environmental Protection Agency).

**Результаты и обсуждение.** Из данных табл. 1 следует, что соединения I-XVI по данным опытов на мышах могут быть отнесены к умеренно-/малотоксичным [8]. Особенностью соединения I (n = 4) является наименьшая в данном ряду токсичность. На дафниях соединения VII-IX, XII, XVI – малотоксичны/практически нетоксичны [5]; исключение составляет высокотоксичное соединение XIII (CL<sub>50</sub> = 0,70 мкМ; табл. 2).

В картине острого действия эффективных доз соединений у мышей и кроликов доминировало

Таблица 1

Биологическая активность соединений в опытах на мышах

Соединение	DL <sub>50</sub> , мкМ, в/б	Миорелаксантная активность, DE <sub>50</sub> , мкМ, в/б		Терапевтическая широта, DL <sub>50</sub> /DE <sub>50</sub>	
		бег на третбане	вращающийся стержень	бег на третбане	вращающийся стержень
I	144,81** 125,92 ÷ 166,53	6,21** 5,44 ÷ 7,07	10,34** 8,92 ÷ 12,00	23,32** 18,55 ÷ 28,12	14,00* 10,93 ÷ 17,07
II	87,83** 75,07 ÷ 102,77	26,35** 21,96 ÷ 31,62	44,14** 37,40 ÷ 52,08	3,33* 2,46 ÷ 4,21	1,99** 1,50 ÷ 2,48
III	20,10** 17,33 ÷ 23,32	1,01** 0,85 ÷ 1,19	1,01** 0,86 ÷ 1,18	19,90** 15,18 ÷ 24,82	19,90** 15,33 ÷ 24,67
IV	21,99** 19,29 ÷ 25,07	0,44* 0,38 ÷ 0,51	0,52** 0,46 ÷ 0,60	49,98** 38,99 ÷ 61,01	42,29** 33,38 ÷ 50,62
V	20,94** 18,05 ÷ 24,29	1,05** 0,89 ÷ 1,24	1,05** 0,89 ÷ 1,23	19,94** 15,18 ÷ 24,82	19,94** 15,33 ÷ 24,67
VI	21,49** 18,85 ÷ 24,50	1,07** 0,92 ÷ 1,26	0,86** 0,75 ÷ 0,99	20,08** 15,60 ÷ 24,40	24,99** 19,87 ÷ 30,13
VII <sup>a)</sup>	59,70** 50,17 ÷ 71,04	5,33** 4,44 ÷ 6,40	5,33** 4,52 ÷ 6,29	11,20* 8,11 ÷ 14,29	11,20* 8,27 ÷ 14,13
VIII	15,04** 12,64 ÷ 17,90	0,24 0,20 ÷ 0,29	0,28 0,24 ÷ 0,34	62,67** 44,56 ÷ 78,51	53,71** 38,62 ÷ 68,05
IX	26,03** 22,63 ÷ 29,93	0,26 0,22 ÷ 0,30	0,28 0,24 ÷ 0,32	100,12** 78,07 ÷ 121,93	92,96** 73,19 ÷ 114,31
X	196,46** 169,37 ÷ 227,9	29,47** 24,97 ÷ 34,77	31,04** 26,53 ÷ 36,32	6,67 5,06 ÷ 8,27	6,33 4,85 ÷ 7,81
XI	58,66** 51,01 ÷ 67,46	0,49* 0,42 ÷ 0,57	0,39 0,34 ÷ 0,45	119,71** 93,68 ÷ 146,32	150,41** 117,10 ÷ 182,90
XII	81,47** 70,23 ÷ 94,50	1,02** 0,87 ÷ 1,19	2,04** 1,74 ÷ 2,38	79,87** 61,32 ÷ 98,68	39,94** 30,66 ÷ 49,34
XIII	33,09** 29,03 ÷ 37,72	20,68** 17,68 ÷ 24,20	17,23** 14,99 ÷ 19,82	1,60** 1,25 ÷ 1,95	1,92** 1,53 ÷ 2,31
XIV	28,54** 24,19 ÷ 33,68	1,52** 1,29 ÷ 1,80	0,95** 0,80 ÷ 1,13	18,78** 13,98 ÷ 23,52	30,04** 22,15 ÷ 37,85
XV	28,73** 24,55 ÷ 33,61	1,80** 1,51 ÷ 2,14	3,59** 3,04 ÷ 4,24	15,96* 11,92 ÷ 20,08	8,00 6,02 ÷ 9,98
XVI	32,76** 28,48 ÷ 37,67	1,93** 1,63 ÷ 2,27	1,64** 1,41 ÷ 1,90	16,97** 13,02 ÷ 20,98	19,98** 15,61 ÷ 24,39
Прозерин	1,53 1,34 ÷ 1,74	0,39* 0,34 ÷ 0,45	0,30 0,26 ÷ 0,35	3,92* 3,11 ÷ 4,73	5,10 4,05 ÷ 6,15
BW284c51	2,12 1,86 ÷ 2,42	0,21* 0,18 ÷ 0,24	0,25 0,22 ÷ 0,29	10,10* 8,07 ÷ 12,13	8,48 6,67 ÷ 10,29

Примечание. Здесь и в табл. 2: различия статистически значимы (p < 0,05) по отношению к прозерину (\*), BW284c51 (\*\*); а) – анион Cl<sup>-</sup>

холиномиметическое гипервозбуждение. Выраженные антихолинэстеразные проявления (мышечные фибрилляции, подергивания и др.) не позволяли мышам полноценно выполнять бег на третбане. Более того, попытки к выполнению физической нагрузки мышами в тесте «бег на третбане», в отличие от теста «вращающийся стержень», приводили к усилению миорелаксанта эффекта соединений в отношении задних конечностей как по интенсивности, так и по длительности («use-dependent effect»).

Присоединение длинного алифатического радикала ( $n\text{-C}_{16}\text{H}_{33}$ ) к атому азота аммонийного центра значительно снижает миорелаксанта активность и терапевтическую широту (соединение XIII). Та же закономерность (но менее выраженная) отмечается и в случае введения в аммонийный центр вместо этильного одного аллильного радикала (соединение X) или при замене этильных радикалов на метильные (соединение II). Увеличение объема бензильного фрагмента в соединении VII также сопряжено со снижением миорелаксанта активности.

По уровням биологической активности на мышах и дафниях изученные моно-аммониевые соединения значимо уступают своим бис-аммониевым аналогам [3]. Наибольшую миорелаксанта активность ( $DE_{50} = 0,24\text{--}1,93$  мкМ), а также терапевтическую широту ( $DL_{50}/DE_{50} = 15,96\text{--}119,71$ ) в тесте «бег на третбане» проявляют соединения, в молекулах которых четвертичные атомы азота удалены от 6-метилурацилового цикла на расстояние, соответствующее 5–8 метиленовым группам (табл. 1; соединения III–VI, VIII, IX, XI, XII, XIV, XVI). Особенно это справедливо для соединений, имеющих  $n = 5\text{--}6$  и орто-нитро-группу в бензильном радикале (VIII, IX, XI). Различия между среднеэффективными дозами соединений, имеющих значения  $n = 5, 6$ , несущественны. Это отличается от результатов, полученных нами ранее для бис-аммониевых производных урацила, где переход от веществ с  $n = 5$  к веществам с  $n = 6, 7$  приводил к сниже-

нию миорелаксанта активности и терапевтической широты более чем в 2 раза [3].

Можно предложить одно из вероятных объяснений, почему имеют узкий максимум миорелаксанта эффективности, соответствующий  $n=5$ , в то время как их моно-аммониевые аналоги имеют более широкий максимум при  $n=5\text{--}8$ . Возможно, наличие 2-го аммониевого фрагмента в бис-аммониевом производном урацила «вынуждает» молекулу закрепляться на ацетилхолинэстеразе в таком положении, которое соответствует максимуму энергии взаимодействия всех 3-х центров связывания (двух аммониевых и урацилового). Это может привести к более «жестким» требованиям к положению урацилового цикла относительно биомишени для бис-аммониевых урацилов по сравнению с моно-аммониевыми урацилами.

**Заключение.** Таким образом, для 12 из 16 изученных соединений (I, III–IX, XI, XII, XIV, XVI) характерны высокие показатели избирательности действия на нервно-мышечную передачу ( $DL_{50}/DE_{50} \geq 10,0$  в тесте «бег на третбане»). По критерию «экологической безопасности» на дафниях ( $CL_{50}$ ) соединения VII, XII, XVI превосходят свои фосфорилированные аналоги – до 5 порядков [3], прозерин – в 60–85 раз, BW284c51 – в 1,5–2 раза (табл. 2). Длина полиметиленовой цепи между аммонийной группой и урациловым фрагментом существенно влияет на параметры как фармакологической, так и экологической безопасности моно-аммониевых производных 6-метилурацила. Наиболее предпочтительными являются пента- и гексаметиленовые цепи.

*Работа поддержана грантами РФФИ № 07-04-01137, № 07-04-12097, Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-4444.2006.4, грантами АН РТ № 03-3.1-30/2006(Г), № 09-9.3-278(ПЛ)/2006(Г).*

#### Список литературы

1. Резник В.С., Аникиенко К.А., Курочкин В.К. и др. Новый класс ингибиторов холинэстераз: тетраалкиламмониевые производные 6-метилурацила и аллоксазина // Доклады РАН., 1998. – Т. 362. – № 1. – С. 68–70.
2. Аникиенко К.А., Бычихин Е.А., Курочкин В.К. и др. Новый класс ингибиторов холинэстераз – тетраалкиламмониевые производные 6-метилурацила: особенности взаимодействия с холинэстеразами разных групп животных // Доклады РАН, 2001. – Т. 376. – № 6. – С. 818–822.
3. Зобов В.В., Петров К.А., Аслямова А.А. и др. Фосфорилированные и тетраалкиламмониевые производные урацила: безопасность и избирательность миорелаксанта действия // Современные проблемы токсикологии, 2004. – № 3. – С. 25–33.

Таблица 2  
Токсичность соединений в опытах на дафниях  
*Daphnia magna*

Соединение	$CL_{50}^{48ч}$ (мкМ)
VII <sup>a)</sup>	165,57* (137,97 ÷ 198,68)
VIII	96,00* (80,00 ÷ 115,19)
IX	43,40** (37,09 ÷ 50,78)
XII	287,01** (245,30 ÷ 335,80)
XIII	0,70** (0,60 ÷ 0,82)
XVI	228,90** (195,64 ÷ 267,82)
Прозерин	2,70* (2,21 ÷ 3,29)
BW284c51	100,56* (82,43 ÷ 122,68)

4. **Фомин Г.С.** Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам. -2-е изд. — М.: Протектор, 1995. — С. 410-458.

5. **Graslund S., Bengtsson B.E.** Chemicals and biological products used in south-east Asian shrimp farming, and their potential impact on the environment // *Sci. Total. Environ.*, 2001. — V. 280. — № 1-3. — P. 93-131.

6. **Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.В. и др.** Фармакологическая коррекция утомления. —

М.: Медицина, 1984. — 208 с.

7. **Jones B.J., Roberts D.J.** The Quantitative Measurement of Motor Incoordination in Naive Mice Using an Accelerating Rotarod // *J. Pharm. Pharmacol.*, 1968. — V. 20. — P. 302-304.

8. **Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К.** Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном введении (справочник). — М.: Медицина, 1977. — С. 196-197.

Материал поступил в редакцию 27.06.07.

V.V.Zobov, A.V.Lantsova, A.V.Zobov, V.D.Akamsin, I.V.Galyametdinova,  
A.S.Mikhaylov, S.M.Gorbunov, V.S.Reznik

### TOXICITY AND THERAPEUTIC BROADNESS OF 1-[ $\omega$ -(SUBSTITUTED BENZYL DIALKYL AMMONIO)ALKYL]-3,6-DIMETHYLURACIL BROMIDES

A. Ye. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences

A row of substituted 1-[ $\omega$ -diethyl benzyl ammonioalkyl]-3,6-dimethyluracil bromides having an anti-choline esterase type of action are «moderate / low toxic» in experiments on mice and «low toxic / practically non-toxic» in experiments on *Daphnia*. Under «treadmill» and «rod rotating» tests (mice, intraperitoneal), substances in which uracil fraction is away from alkyl ammonio fraction at a distance of 5 to 8 methylene groups are safer than proserine and BW284c51.

УДК 611.611:616.613-007.63:615.332.099]-092.9

К.М.Бушма, Л.С.Кизюкевич, М.И.Бушма, В.В.Спас

### РОЛЬ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ ПОЧЕК В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ КРОЛИКОВ С ГИДРОНЕФРОЗОМ К НЕФРОТОКСИЧНОСТИ АМИНОГЛИКОЗИДОВ НА ПРИМЕРЕ ГЕНТАМИЦИНА

Медицинский университет Минздрава РБ, Гродно, Республика Беларусь

Установлена взаимосвязь между особенностями строения гидронефротической почки кроликов и её чувствительностью к нефротоксичности гентамицина. Поражение почки гентамицином в большой степени выражено у кроликов со следующими особенностями строения юкстамедулярных нефронов: малый диаметр проксимальных извитых канальцев, малые размеры клеток эпителия и их ядер дистальных извитых канальцев, малые ядра клеток эпителия дистальных прямых канальцев.

**Ключевые слова:** кролики, гидронефроз, строение почки, предрасположенность к нефротоксичности гентамицина.

**Введение.** Хорошо известна различная индивидуальная чувствительность почек животных и человека к поражению аминогликозидами [12, 13]. К нефротоксичности гентамицина предрасполагают следующие особенности интактных (до воздействия антибиотиком) почек: малый диаметр канальцев и клеток, выстилающих их просвет [4]; низкая интенсивность дыхания митохондрий [5], повышенное содержание продуктов перекисного окисления липидов в сочетании со сниженным антиоксидантным потенциалом [6].

Целью настоящего исследования явилось выяснение взаимосвязи между особенностями строения нефронов гидронефротической почки и предрасположенностью органа к нефротоксичности гентамицина.

**Материалы и методы исследования.** Опыты проведены на 13 кроликах-самках с исходной массой 2–3 кг. Под общей анестезией диэтиловым эфиром в стерильных условиях моделировали гидронефроз правой почки путём наложения шёлковой лигатуры в верхней 1/3 правого мочеточника (ограничение просвета  $\approx$  на 50%).

Степень развития гидронефроза контролировали с помощью УЗИ и, в последующем, после нефрэктомии.

Через 30 дней удаляли правую гидронефротическую почку и моделировали гидронефроз единственной оставшейся левой почки как описано выше. В удаленной правой почке изучали особенности строения корковых (КН) и юкстамедуллярных нефронов (ЮН): диаметр канальцев, высоту клеток, выстилающих их просвет, объём ядер. На основании полученных результатов составляли «морфологический паспорт» гидронефротической правой почки каждого кролика. Через 12 дней после правосторонней нефрэктомии и начала развития гидронефроза оставшейся левой почки, моделировали её токсическое поражение гентамицином (производитель – РУП «Борисовский завод медицинских препаратов», Республика Беларусь), в мышцу 60 мг/кг/день, 5 дней [10,11].

Через 24 ч после последнего введения гентамицина из краевой вены уха брали кровь для проведения исследований. Затем кроликов подвергли эвтаназии путём болюсного введения 100 мг/кг гексенала (в краевую вену уха, однократно). После остановки дыхания извлекали левую почку и мочу из мочевого пузыря (шприцом в стерильных условиях).

Степень выраженности нефротоксичности гентамицина по отношению к единственной левой гидронефротической почке оценивали с использованием морфологических (почка – окраска гематоксилином и эозином), биохимических и клинических (моча, кровь) исследований.

В гистологических срезах почки, окрашенных гематоксилином и эозином, определяли некротизированные корковые и юкстамедуллярные нефроны. В моче регистрировали содержание белка, лейкоцитов и эритроцитов. В крови изучали содержание мочевины – уреазной реакцией с реактивами фирмы «Abbott» (США), креатинина (Яффе-кинетическим методом с реактивами фирмы «Hospitex Diagnosties»), уровень средних молекул [7].

Для нахождения взаимосвязей между особенностями строения гидронефротической правой почки и характером, степенью выраженности нефротоксичности гентамицина по отношению к гидронефротической левой почке использовали методы корреляционного, пошагового многофакторного регрессионного, дисперсионного и канонического анализа [1, 9].

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что ограничение просвета мочеточника на  $\approx 50\%$  путём наложения шёлковой лигатуры в его верхней 1/3 сопровождается развитием выраженного

гидронефроза. Это подтверждается УЗИ (ослабление дыхательной подвижности почки; снижение толщины паренхимы и расширение лоханки в 2–3 раза); отсутствие контуров мочеточника в верхней 1/3) и после нефрэктомии (застой мочи выше лигатуры с резким расширением верхней 1/3 мочеточника и почки). Установлена вариабельность строения КН и ЮН гидронефротической левой почки (табл.1)

Гентамицин в указанной дозе, пути и кратности введения кроликам с единственной гидронефротической левой почкой оказал нефротическое действие, степень выраженности которого в популяции животных сильно варьирует (табл. 1).

*Корреляционный анализ.* Взаимосвязей между особенностями строения КН и ЮН правой гидронефротической почки кроликов (до интоксикации гентамицином), и процентом некротизированных КН, ЮН в левой гидронефротической оставшейся почке, а также содержанием мочевины в крови (после интоксикации гентамицином) не установлено (табл. 1).

Доказано, что содержание белка в моче кроликов с гидронефрозом после интоксикации гентамицином максимально у животных с исходно малой высотой клеток эпителия, выстилающих ДИК ЮН, а также с малым объёмом их ядер. Содержание лейкоцитов и эритроцитов в моче этих кроликов максимально у животных с исходно малыми объёмами ядер эпителия, выстилающих ДПК ЮН. Кроме того, содержание эритроцитов максимальное у животных с малым диаметром ДПК ЮН. Содержание креатинина и средних молекул в крови наиболее высокое у животных с исходно малым диаметром ПИК ЮН (табл. 1).

*Пошаговый многофакторный регрессионный анализ.* Взаимосвязь между показателями нефротоксичности гентамицина по отношению к единственной гидронефротической левой почке и морфологическими показателями правой гидронефротической почки (до интоксикации антибиотиком) представлена в табл. 2 в форме уравнений множественной регрессии.

Установлено, что вызванная гентамицином альбуминурия максимальна у кроликов с исходно (до интоксикации антибиотиком) малой высотой клеток ДИК ЮН и малым объёмом их ядер. Взаимосвязь показателей описывается уравнением 1 множественной линейной регрессии (табл. 2).

Наиболее выраженная гематурия к концу интоксикации гентамицином регистрируется у кроликов с исходно малым диаметром ДПК ЮН и малым объёмом ядер клеток эпителия, выстилающих его просвет. Взаимосвязь показателей

Таблица 1

**Коэффициенты корреляции между показателями в правой почке кроликов с гидронефрозом до интоксикации гентамицином и показателями его нефротоксического действия по отношению к левой гидронефротической почке**

Показатель в гидронефротической правой почке до интоксикации гентамицином		Показатель нефрогенности гентамицина у кроликов с единственной гидронефротической левой почкой						
		Некротизированные клетки, %			Моча			Кровь, ммоль/л
КН	ЮН	белок	лейкоциты	эритроциты	мочевина	креатинин	средние молекулы	
(5,0–31,3)	(6,3–58,3)	(0,04–3,6 г/л)	(1–50 п.зр)	(3–50 п.зр)	(4,5–16,2)	(0,02–0,31)	(0,23–0,43)	
КН: 1) ПИК	диаметр (31,63–36,21, мкм)	+0,45	-0,17	-0,11	+0,04	-0,28	-0,19	
	высота клеток (10,54–15,44, мкм)	-0,25	-0,26	-0,10	-0,34	-0,12	-0,13	
	объём ядра (116,97–178,84, мкм <sup>3</sup> )	+0,47	-0,06	+0,03	+0,57	+0,15	-0,03	
2) ДИК	диаметр (21,11–32,45, мкм)	+0,57	-0,43	-0,23	+0,29	-0,20	+0,07	
	высота клеток (7,02–9,91, мкм)	-0,02	-0,36	-0,45	+0,17	-0,07	+0,04	
	объём ядра (79,10–170,33, мкм <sup>3</sup> )	+0,40	-0,25	-0,16	+0,14	-0,11	-0,28	
ЮН: 1) ПИК	диаметр (29,63–36,96, мкм)	-0,42	-0,36	-0,02	-0,57	<b>-0,63*</b>	<b>-0,66*</b>	
	высота клеток (10,98–15,91, мкм)	-0,48	+0,19	+0,21	-0,39	+0,29	+0,17	
	объём ядра (81,08–196,16, мкм <sup>3</sup> )	+0,27	-0,48	-0,25	+0,16	+0,03	-0,03	
2) ДИК	диаметр (20,20–32,16, мкм)	+0,55	-0,06	+0,08	+0,37	-0,08	-0,03	
	высота клеток (6,71–9,58, мкм)	+0,12	-0,24	-0,53	+0,40	+0,13	+0,16	
	объём ядра (77,42–154,11, мкм <sup>3</sup> )	+0,47	-0,01	-0,10	+0,55	+0,23	-0,14	
3) ДПК	диаметр (16,68–23,31, мкм)	-0,05	-0,33	<b>-0,91*</b>	+0,07	-0,32	+0,20	
	высота клеток (6,43–8,08, мкм)	-0,07	-0,09	-0,26	-0,13	-0,04	-0,11	
	объём ядра (69,76–122,44, мкм <sup>3</sup> )	-0,17	<b>-0,80*</b>	<b>-0,80*</b>	-0,27	-0,27	+0,33	

Примечания. В скобках – вариabельность показателей от минимальных до максимальных значений. Здесь и в табл. 2: КН – корковые нефроны, ЮН – юкстаамелулярные нефроны, ПИК – проксимальный извитой каналец, ДИК – дистальный извитой каналец, ДПК – дистальный прямой каналец, п.зр. – в поле зрения. \* –  $p < 0,05$ .

**Уравнения регрессии, описывающие взаимосвязи между показателями нефротоксичности гентамицина в отношении единственной левой гидронефротической почки и особенностями строения гидронефротической правой почки до интоксикации антибиотиком**

№ уравнения	Показатель нефротоксичности гентамицина (Z)	Показатель до интоксикации гентамицином		Уравнение и тип регрессии	Коэффициент корреляции
		(X)	(Y)		
1	Белок в моче	Высота клеток ДИК ЮН	Объём ядра ДИК ЮН	$Z = 8,29 - 0,95 X$ , линейная	$R = 0,71$ $R^2 = 0,51$
2	Эритроциты в моче	Диаметр ДПК ЮН	Объём ядра клеток ДПК ЮН	$Z = 203,11 - 9,43 X$ , линейная	$R = 0,91$ $R^2 = 0,83$

описывается уравнением 2 множественной линейной регрессии (табл. 2).

*Дисперсионный анализ (ANOVA).* Прогностическая эффективность модели (уравнение 1 в табл. 2), полученной после исключения незначимой переменной – объём ядра ДИК ЮН – 64%. Она считается хорошей. Коэффициент детерминации 0,64. Следовательно, 64% изменений содержания белка в моче после интоксикации гентамицином обусловлено исходными значениями высоты клеток эпителия, выстилающих ДИК ЮН. Построенная модель адекватно описывает зависимость между этими показателями:  $F(1,9) = 9,36$ ,  $p = 0,014$ .

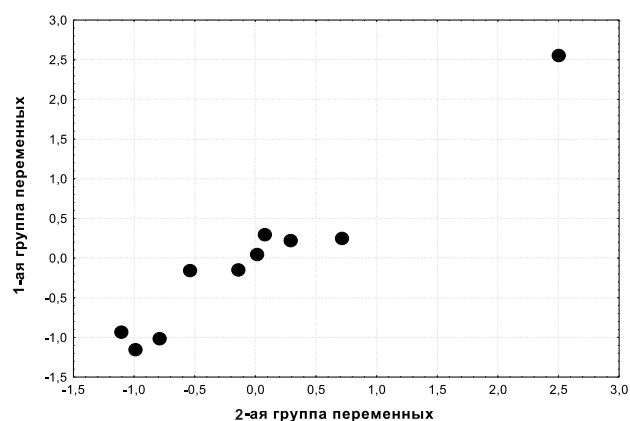
Между диаметром ДПК ЮН, объёмом ядра клеток эпителия, выстилающих его просвет (до интоксикации гентамицином), и содержанием эритроцитов в моче (после интоксикации антибиотиком) существует связь линейного типа. После исключения из анализа менее информативного показателя – объёма ядра клеток эпителия ДПК ЮН, регрессионная модель (уравнение 2 в табл. 2) адекватна данным ( $p = 0,0001$ ). Значение критерия  $F(1,9) = 43,58$ . Доказано, что 83% вариации уровня эритроцитов в моче кроликов после интоксикации гентамицином объясняется исходной (до интоксикации гентамицином) вариабельностью диаметра ДПК ЮН.

*Канонический анализ.* Результаты канонического анализа подтвердили наличие выраженной статистически значимой корреляционной связи ( $R = 0,97$ ;  $p = 0,003$ ;  $\chi^2 = 23,48$ ) между показателями в гидронефротической почке до интоксикации гентамицином (1-я группа переменных) и показателями повреждения органа антибиотиком (2-я группа переменных). В 95% случаев предрасположенность к поражению гидронефротической почки гентамицином, судя по данным клинико-биохимических (моча, кровь) исследований, обусловлена исходными особенностями строения нефронов гидронефротической почки. В 5% случаев поражение гидронефротической почки гентамицином обусловлено влиянием случайных неучтенных факторов невыясненной природы.

Сильная прямая связь между первыми каноническими (латентными) переменными для 1 и 2-ой групп хорошо просматривается на рис. по положению вытянутого вправо вверх поля точек. Это свидетельствует о том, что показатели до интоксикации гентамицином (объём ядра и высота клеток ДИК ЮН, а также диаметр ДПК ЮН и объём ядра клеток эпителия, выстилающих его просвет) значимо связаны с показателями после интоксикации (белок и эритроциты в моче).

Детальное изучение результатов канонического анализа показало, что наибольший вклад в предрасположенность кроликов с гидронефрозом к нефротоксичности гентамицина вносит исходно малый объём ядра клеток эпителия, выстилающих ДПК ЮН.

Доказано, что уменьшение диаметра канальцев нефронов, размера их клеток и ядер отражает предрасположенность почечной паренхимы к нефротоксическому действию гентамицина у кроликов с гидронефрозом. Пытаясь объяснить данную взаимосвязь, мы исходили из того, что в



**Рис. Множество исследуемых кроликов в координатах 1 и 2-ой групп переменных**

1-ая группа переменных – показатели в правой гидронефротической почке до интоксикации гентамицином (высота клеток эпителия ДИК ЮН и объём ядра клеток эпителия, выстилающих их просвет).

2-ая группа переменных – показатели нефротоксичности гентамицина по отношению к оставшейся левой гидронефротической почке (белок и эритроциты в моче).

Кружок на графике – индивидуальный кролик

почечной, как и в любой ткани, всегда важнейшим признаком является связь между составляющими её элементами [3]. Уменьшение диаметра канальцев и высоты выстилающих эпителиоцитов сопровождается уменьшением количества и размеров внутриклеточных функционирующих структур: ядра, митохондрии, микроворсинки, складки базальной цитолеммы, цитосомы и др. Изменения количественного показателя цитоплазмы эпителиоцитов (по сравнению с более крупными канальцами и выстилающими их крупными эпителиоцитами) сопровождается уменьшением метаболизма клеток. Это, в свою очередь, вызывает снижение основной функции канальцевого аппарата нефрона – сложного процесса мочеобразования, начинающегося от реабсорбции ультрафильтрата из первичной мочи до образования окончательной мочи [2]. Перегрузка таких канальцев и выстилающих их эпителиоцитов в условиях тяжелого острого или хронического эксперимента может привести к срыву окислительного фосфорилирования и угнетению активности дыхательных ферментов в клетках канальцев. Следствием этого может стать почечная недостаточность [2]. В данном случае поддержание структурного гомеостаза компенсаторными механизмами будет реализовываться при очевидном несоответствии уровня функционирования и его пластического обеспечения. Известно, что надежность любой биологической системы опирается на структурную основу, а именно – на варьирование числа активно функционирующих систем из запаса [3].

Ранее нами установлено, что в предрасположенности интактных кроликов к нефротоксичности гентамицина играют роль малые размеры как канальцев, так и клеток, выстилающих их просвет [5]. Это положение продемонстрировано также в настоящем исследовании у кроликов с гидронефрозом.

**Заключение.** Сравнительный анализ результатов исследования двух групп животных показал, что особенности строения почек у интактных

кроликов вносят значительно больший вклад в предрасположенность к нефротоксичности гентамицина, чем у животных с гидронефрозом.

*Исследование выполнено благодаря финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда Фундаментальных исследований при СМ РБ (грант Б98-022).*

#### Список литературы

1. Афифи А., Эйзен С. *Статистический анализ. Подход с использованием ЭВМ.* – М.: Мир, 1982.
2. Бабахян Р.В., Скрижинский С.Ф., Ягумуров О.Д. // *Нефрология*, 1988. – Т. 2. – С. 85-87.
3. Брюховец Т.Г., Пуликов А.С., Левкович Л.Г. // *Актуальные проблемы морфологии / Под. ред. Н.С.Горбунова.* – Красноярск, 2003. – С. 21-22.
4. Бушма К.М., Кизюкевич Л.С., Бушма М.И. и др. // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины*, 2004. – № 11. – С. 544-549.
5. Бушма К.М. // *Токсикологический вестник*, 2005. – № 6. – С. 25-30.
6. Бушма К.М. // *Эксперим. и клин. фармакология*, 2006. – № 1. – С. 33-37.
7. Камышников В.С. // *Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике.* – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
8. Роговский Ю.Е. // *Одеск. мед. журн.*, 2000. – № 1. – С. 32-35.
9. Урбах В.Ю. *Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях.* – М.: Медицина, 1975. – 295 с.
10. Abu-Stephan K.A., Abdel-Gayoum A.A. // *Arch. Toxicol.*, 2001. – V. 75. – № 5. – P. 284-290.
11. Enziguez J.I. Sr., Schydlower M., O'Hair K.C. et al. // *Vet. Hum. Toxicol.*, 1992. – V. 34. – № 1. – P. 32-35.
12. Schentag J.J., Plaut M.E. // *Kidney Int.*, 1980. – V. 17. – № 5 – P. 654-661.
13. Sens M.A., Hazen-Martin D.J., Sens D.A. // *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 1993. – V. 23. – № 5. – P. 362-368.

Материал поступил в редакцию 15.05.07.

**К.М.Бушма, Л.С.Кизюкевич, М.И.Бушма, В.В.Спас**

### **ROLE OF INDIVIDUAL PARTICULARITIES OF KIDNEY STRUCTURE IN PREDISPOSITION OF RABBITS WITH HYDRONEPHROSIS TO NEPHROTOXICITY INDUCED BY AMINO GLYCOSIDES ON THE EXAMPLE OF GENTAMICIN**

*Medical University, Ministry of Health of Byelorussia, Grodno*

It was established a relationship between particularities of the structure of rabbit hydronephrotic kidneys and their sensitivity to gentamicin nephrotoxicity. The lesion of a kidney by gentamicin is expressed to a great extent in rabbits having the following particularities in the structure of juxtamedullary nephrons: small diameter of proximal convoluted tubules, small sizes of epithelium cells and their nuclei in distal convoluted tubules, small sizes of nuclei of epithelium cells in distal convoluted tubules, small nuclei of epithelium cells in distal straight tubules.

УДК 615.252.349.099:577.12+612.017.1

И.А.Палагина\*, М.Я.Кудря, В.В.Козарь, А.В.Кудря

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ  
В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОМ  
ВОЗДЕЙСТВИИ АНТИДИАБЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ*Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины, Харьков*

В экспериментах на крысах установлено, что при субхронической экспозиции антидиабетические средства (АДС) фенсукцинал, диакамф и гликлазид вызывают изменения состояния монооксигеназной системы, процессов свободнорадикального пероксидного окисления, системы антиоксидантной защиты и иммунного статуса. Особенности действия АДС на организм могут быть использованы для установления критериев их токсичности при обосновании гигиенических нормативов.

**Ключевые слова:** антидиабетические средства, субхроническая экспозиция, метаболические изменения, про- и антиоксидантная система, иммунная система.

**Введение.** Проблема профилактики и лечения сахарного диабета (СД), одного из наиболее тяжелых и широко распространенных в мире эндокринных заболеваний, признана глобальной медико-социальной проблемой XXI века. Эта проблема является весьма актуальной и для Украины, где за последние 10 лет количество больных СД возросло более чем в 1,5 раза и составляет около 1 млн. человек [1]. Ее решение напрямую зависит от создания, расширения спектра и внедрения в химико-фармацевтическое производство эффективных антидиабетических средств (АДС) с минимальными побочными эффектами или полным их отсутствием.

Изучение состояния прооксидантно-антиоксидантных процессов и иммунной резистентности при воздействии АДС имеет важное значение для выявления ранних механизмов функционально-метаболических нарушений и обоснования риска токсического действия на организм этих соединений.

Цель работы заключалась в выяснении особенностей субхронического перорального воздействия антидиабетических средств: фенсукцинала, диакамфа (производных янтарной и камфорной кислот) и гликлазида (производное сульфонилмочевины) на состояние углеводного, липидного и белкового метаболизма, прооксидантно-антиоксидантных процессов и иммунной системы у крыс.

**Материалы и методы исследования.** В экспериментах использовали 250 половозрелых самцов белых беспородных крыс массой тела 180–220 г. разведения Института проблем эндокринной патологии АМН Украины. Животных содержали в стандартных условиях с соблюдением полноцен-

ного пищевого рациона и свободного доступа к воде. Фенсукцинал вводили перорально 5-, 15- и 30-кратно в дозе 500 и 100 мг/кг (1/20 и 1/100 DL<sub>50</sub>), диакамф – 1000 и 100 мг/кг (1/10 и 1/100 DL<sub>50</sub>) и гликлазид – 500 мг/кг (1/20 DL<sub>50</sub>). После 5, 15 и 30 введений АДС животных умерщвляли декапитацией под легким эфирным наркозом.

Для характеристики состояния углеводного обмена определяли содержание глюкозы в крови на анализаторе глюкозы «Эксан-Г» и содержание гликогена в гомогенате печени [7]. При исследовании состояния липидного обмена в сыворотке крови определяли содержание общих липидов [8], β-липопротеидов и холестерина [9], триглицеридов и фосфолипидов с использованием стандартных тест-наборов фирмы «Pliva-Lachema» (Чехия) и «Sentinel CH» (Италия). Состояние белкового обмена оценивали по уровню общего белка, протеинограммам и тимоловой пробе в сыворотке крови [9]. Определяли также активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ) в сыворотке крови с использованием стандартных тест-наборов фирмы «Pliva-Lachema» (Чехия).

Методом дифференциального центрифугирования выделяли микросомальную фракцию печени [10], в которой определяли содержание цитохромов В<sub>5</sub> и Р<sub>450</sub> [11], интенсивность спонтанной хемилюминесценции (СХЛ), амплитуду быстрой вспышки и светосумму Fe<sup>2+</sup>- и Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>-индуцированной хемилюминесценции (Fe<sup>2+</sup>-ХЛ, Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>-ХЛ) [12], т. е. показатели, характеризующие состояние монооксигеназной системы (МОС), СРПО, ПОЛ, системы антирадикальной защиты (АРЗ) и АОЗ. Содержание белка в пробах определяли методом М. Бредфорда [13]. В гомогенате печени, сыворотке и цельной крови определяли содержание диеновых конъюга-

\* Фрагмент диссертационной работы



тов (ДК) [14], соединений, которые реагируют с тиобарбитуровой кислотой (ТБКАС) [15], восстановленного глутатиона (ГлШН) [16] и церулоплазмина [9], активность каталазы [17] и супероксиддисмутазы (СОД) [18].

Состояние неспецифической резистентности организма оценивали по показателям фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов: фагоцитарному индексу (ФИ) и фагоцитарному числу (ФЧ) [19], их бактерицидной активности (окислительно-восстановительный потенциал) в НСТ-тесте [20]. Исследовали также активность естественных клеток-киллеров (ЕКК) по показателю естественной киллерной активности (индекс ЕКК) [21]. Содержание фактора некроза опухолей- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и интерлейкина-4 (ИЛ-4) определяли иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы «Укрмедсервис», Донецк.

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной статистики с помощью стандартного пакета программ Excel-2003. Для сравнения двух рядов с нормальным распределением применяли классический t-критерий Стьюдента и модифицированный критерий с раздельной оценкой дисперсий. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что в динамике субхронической экспозиции препарат сульфонилмочевины гликлазид в дозе 500 мг/кг оказывает заметное влияние на состояние основных биохимических процессов в печени крыс (табл. 1). Его специфическая гипогликемическая активность проявляется в виде достоверного снижения в крови уровня глюкозы, отмечающегося на протяжении всего воздействия на фоне снижения содержания гликогена в ткани печени, связанного, по-видимому, с компенсаторной стимуляцией процесса гликогенолиза. Учитывая механизмы действия гликлазида [22], этот эффект обусловлен стимуляцией панкреатических  $\beta$ -клеток и, соответственно, изменением инсулин-зависимого обмена глюкозы с ускорением ее окисления в тканях.

Гипогликемический эффект гликлазида сопровождается некоторыми изменениями в сфере белкового обмена (табл. 1). После 15-ти введений выявлена диспротеинемия в виде повышения содержания фракции альбуминов, снижения  $\gamma$ -глобулинов и повышения коэффициента А/Г ( $p < 0,05$ ), что может служить на данном этапе эксперимента признаком стимуляции белок-синтезирующей функции печени и некоторого снижения иммуноглобулин-синтезирующей способности клеток крови.

После 30-кратной экспозиции гликлазида зарегистрировано снижение содержания обще-

го белка ( $p < 0,05$ ), показателя тимоловой пробы ( $0,05 < p < 0,1$ ) и активности АлАТ ( $p < 0,05$ ) в сыворотке крови. Эти изменения в определенной мере отражают напряжение компенсаторно-приспособительных процессов, направленных на поддержание системы гомеостаза организма на уровне, необходимом для обеспечения адекватных биохимических процессов.

При исследовании состояния липидного обмена в сыворотке крови выявлена тенденция к статистически значимому повышению уровня общих липидов ( $0,05 < p < 0,1$ ) после 15 и 30 введений гликлазида, а также достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение после 30-кратной экспозиции содержания  $\beta$ -липопротеидов – основного носителя холестерина плазмы (табл. 1). Эти изменения могут свидетельствовать об активации в условиях длительной гипогликемии компенсаторных механизмов, направленных на вовлечение липидов в процессы энергетического обмена в организме.

Исследованиями состояния процессов ПОЛ и системы АОЗ при субхроническом введении гликлазида выявлено уменьшение почти в 2 раза содержания ГлШН в сыворотке ( $13,0 \pm 1,8$  мг/100 мл – опыт,  $27,6 \pm 3,8$  мг/100 мл – контроль;  $p < 0,05$ ) и незначительное снижение активности каталазы в гомогенате печени ( $16,5 \pm 1,1$  мкат/л/с – опыт,  $18,9 \pm 0,4$  мкат/л/с контроль;  $0,05 < p < 0,1$ ), что наблюдалось после 30-кратной экспозиции. При этом не зарегистрированы изменения содержания ДК в сыворотке и гомогенате печени, и ТБКАС в крови и гомогенате печени (рис. 1). На протяжении всего эксперимента не выявлены также изменения параметров СХЛ,  $Fe^{2+}$ -ХЛ и  $H_2O_2$ -ХЛ в микросомальной фракции печени, что свидетельствует об относительной стабильности процессов СРПО в целом, содержания гидропероксидов липидов, систем АРЗ и АОЗ на субклеточном уровне. Можно предположить, что одним из важных компенсаторных механизмов, обеспечивающих стабильность состояния процессов СРПО на фоне введения гликлазида, является напряжение глутатионового звена системы АОЗ (увеличенное потребление глутатиона тканями).

Субхроническое воздействие фенсукцинала и диакамфа – АДС из группы производных дикарбоновых кислот на метаболический статус крыс имеет свои особенности по сравнению с гликлазидом.

При исследовании влияния этих АДС на состояние обмена углеводов, белков и липидов выявлено только увеличение содержания холестерина в сыворотке крови после 30 введений диакамфа в дозе 1000 мг/кг ( $5,3 \pm 0,7$  ммоль/л – опыт,  $3,6 \pm 0,2$  ммоль/л – контроль;  $p < 0,05$ ), что может быть обусловлено дисбалансом в системе

**Биохимические показатели состояния углеводного, белкового и липидного обмена при субхроническом воздействии гликлазида,  $X \pm S_x$ , n = 10**

Показатель	Кратность введения	Контроль	Гликлазид
Глюкоза крови, моль/л	5	4,4±0,2	1,7±0,1*
	15	3,9±0,3	2,8±0,2*
	30	4,4±0,1	2,3±0,3*
Гликоген печени, г/ г ткани	15	4293±498	2399±391*
	30	2689±209	1512±185*
Общий белок сыворотки, г/л	15	83,4±3,1	80,0±7,2
	30	98,9±6,0	80,4±2,7*
Тимоловая проба, SH ед.	15	5,5±0,5	5,6±1,0
	30	3,2±0,7	1,7±0,4**
Альбумины / Глобулины	15	0,58±0,01	0,70±0,03*
	30	0,53±0,03	0,59±0,04
АлАт сыворотки, мккат/л	15	0,490±0,070	0,438±0,086
	30	0,563±0,046	0,375±0,056*
АсАт сыворотки, мккат/л	15	0,879±0,060	0,810±0,119
	30	0,859±0,036	0,734±0,062
Общие липиды сыворотки, г/л	15	1,8±0,1	2,1±0,1**
	30	2,3±0,2	2,8±0,2**
Холестерин сыворотки, ммоль/л	15	2,0±0,1	2,6±0,2
	30	3,0±0,5	2,8±0,1
β-Липопротеиды сыворотки, г/л	15	0,67±0,10	0,51±0,05
	30	0,62±0,08	0,35±0,03*
Триглицериды сыворотки, ммоль/л	15	0,9±0,1	0,93±0,09
	30	0,9±0,1	0,7±0,1
Фосфолипиды сыворотки, ммоль/л	15	1,3±0,1	1,2±0,1
	30	1,3±0,1	1,4±0,2

Примечание: \* (p < 0,05), \*\* (0,05 < p < 0,1) – уровень статистической достоверности сравнительно с контролем

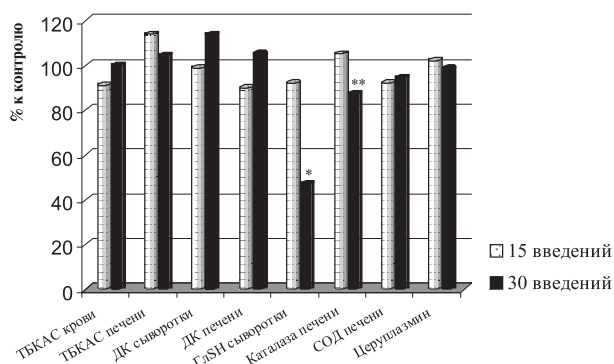
биотрансформации холестерина или его включения в липопротеиды.

На фоне введения фенсукцинала отмечаются изменения функционального состояния МОС, о чем свидетельствуют сдвиги содержания цитохрома P<sub>450</sub> в микросомальной фракции печени крыс. Так, при его экспозиции в дозе 500 мг/кг (5 введений) уровень цитохрома P<sub>450</sub> повышается практически в 2 раза (1,05±0,18 нмоль на 1 мг белка – опыт, 0,60±0,06 нмоль на 1 мг белка – контроль; p < 0,05), возможно вследствие интенсификации его синтеза *de novo*. Это может способствовать, с одной стороны, ускорению биотрансформации ксенобиотика, а с другой – активации процессов СРПО, являющейся одним из ключевых звеньев неспецифических механизмов реализации токсических эффектов. При введении фенсукцинала в дозе 100 мг/кг (15-кратно) уровень цитохрома P<sub>450</sub>, наоборот, снижается (1,60±0,18 нмоль на 1 мг белка – опыт, 2,74±0,39

нмоль на 1 мг белка – контроль; p < 0,05), что, очевидно, связано с накоплением в печени токсичных метаболитов ПОЛ. Как известно [23], активация ПОЛ может приводить к дезорганизации структуры мембран ЭПР с освобождением их гидрофобной зоны, а, следовательно, дестабилизации и ингибированию активности в том числе и цитохрома P<sub>450</sub>, большая часть которого локализована в этой зоне мембран. Таким образом, эффекты фенсукцинала на состояние МОС можно рассматривать как ранние проявления его токсического влияния на организм.

Для субхронического воздействия фенсукцинала и диакамфа характерен стимулирующий эффект на процессы СРПО, выраженность которого зависит от дозы и срока их введения.

На протяжении всего срока экспозиции фенсукцинала в дозе 500 мг/кг и диакамфа – 1000 мг/кг зарегистрировано достоверное повышение в микросомах печени интенсивности СХЛ,



**Рис. 1. Показатели состояния ПОЛ и АОЗ при субхроническом воздействии гликлазида**

Контроль – 100%; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $0,05 < p < 0,1$  – уровень достоверных различий между контролем и опытом

свидетельствующее об увеличении скорости рекомбинации свободнорадикальных форм кислорода (рис. 2). К изменению этого показателя после 5 введений фенсукцинала и 15 – диакамфа в указанных дозах присоединяется повышение светосуммы  $Fe^{2+}$ -ХЛ, что указывает на замедление скорости окисления гидроперекисей липидов (ГПЛ), содержание которых в микросомах печени не изменяется, судя по отсутствию изменений амплитуды быстрой вспышки  $Fe^{2+}$ -ХЛ на этих этапах исследований.

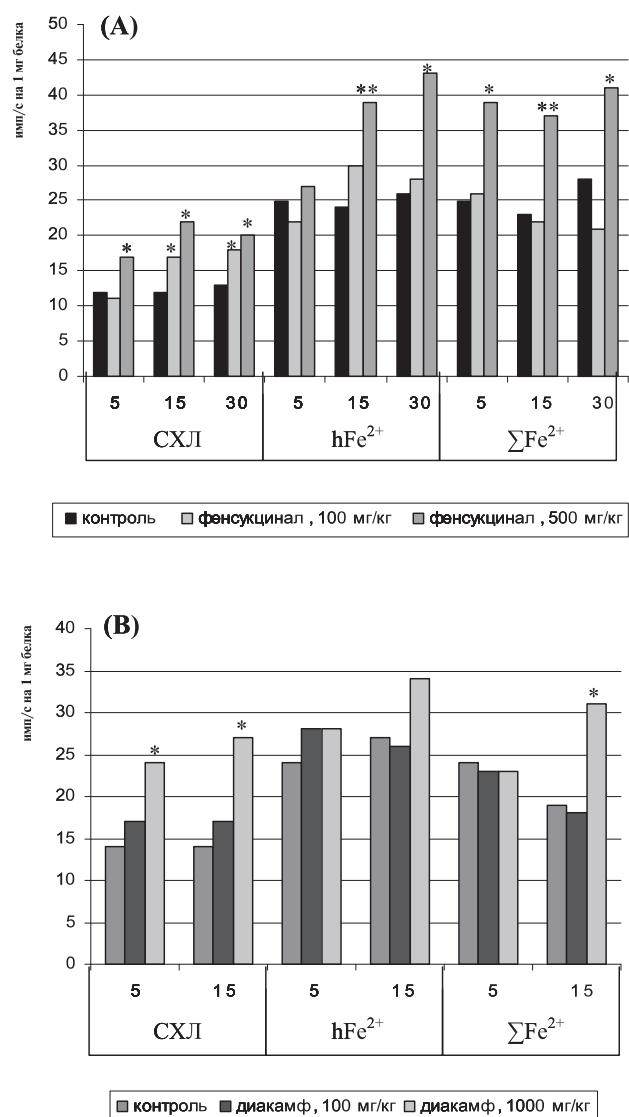
Более продолжительное воздействие фенсукцинала (15 и 30 введений) приводит к выраженной активации цепных реакций ПОЛ, индуцируемых свободнорадикальными формами кислорода, и, соответственно, накоплению в микросомах печени избыточного количества ГПЛ (статистически значимое повышение амплитуды быстрой вспышки  $Fe^{2+}$ -ХЛ), которое сохраняется и за счет замедления их дальнейшего окисления (рис. 2).

При введении АДС в дозе 100 мг/кг активация процессов СРПО наблюдается только на фоне экспозиции фенсукцинала. После 5 введений в гомогенате печени увеличивается содержание начальных продуктов липопероксидации – ДК ( $100,3 \pm 6,2$  мкмоль/г – опыт,  $69,4 \pm 7,1$  мкмоль/г – контроль;  $p < 0,05$ ), что является признаком повышения интенсивности процессов ПОЛ. После 15 и 30 введений фенсукцинала в микросомах печени достоверно повышена интенсивность СХЛ (рис. 2), свидетельствующая об активации процессов пероксидной модификации биомолекул в целом. Одновременно с этими изменениями после 30-кратной экспозиции выявлено снижение содержания ТБКАС – конечных продуктов ПОЛ в гомогенате печени ( $64,7 \pm 3,7$  мкмоль/г – опыт,  $97,1 \pm 12,1$  мкмоль/г – контроль;  $p < 0,05$ ) и крови ( $0,75 \pm 0,06$  мкмоль/л – опыт,  $0,88 \pm 0,03$  мкмоль/л – контроль;  $0,05 < p < 0,1$ ), что зависит не только от состояния прооксидантных, но и антиоксидантных систем организма.

На фоне 15-кратного введения диакамфа в дозе 100 мг/кг зарегистрировано снижение уровня ДК в гомогенате печени ( $49,9 \pm 11,5$  мкмоль/г – опыт,  $77,6 \pm 5,9$  мкмоль/г – контроль;  $p < 0,05$ ), что, по-видимому, связано с проявлением его антиоксидантной активности.

При субхроническом введении фенсукцинала и диакамфа в исследованных дозах не зарегистрированы изменения кинетических параметров  $H_2O_2$ -ХЛ, что свидетельствует об относительной стабильности систем АРЗ и АОЗ микросомальной фракции печени крыс.

Таким образом, анализ субхронического воздействия АДС из группы производных сульфонилмочевины и производных дикарбоновых кислот на метаболический статус крыс показал,



**Рис. 2. Кинетические параметры хемилюминесценции микросом печени крыс при субхроническом пероральном воздействии фенсукцинала (А) и диакамфа (В)**

СХЛ – спонтанная хемилюминесценция;  $hFe^{2+}$  – амплитуда быстрой вспышки;  $\Sigma Fe^{2+}$  – светосумма; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $0,05 < p < 0,1$  – уровень достоверных различий между контрольной и опытной группой

Показатели неспецифической активности крыс  
при субхроническом пероральном введении АДС,  $X \pm S_x$ ,  $n = 10$

Показатель	Контроль	Гликлазид, 500 мг/кг	Фенсукцинал, 500 мг/кг	Диакамф, 100 мг/кг
Индекс ЕКК	38,2±8,8	38,8±4,2	16,1±7,9**	20,7±7,8**
ФИ, %	47,7±4,4	51,6±7,8	60,1±7,8**	66,5±3,9**
ФЧ	1,3±0,18	1,4±0,16	1,5±0,2	1,6±0,14*
НСТ, %	8,0±2,8	19,3±3,5**	23,4±5,7**	38,0±4,9**

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  – уровень статистической достоверности сравнительно с контролем

что при такой экспозиции они имеют некоторые отличительные особенности по характеру выявленных изменений в организме. Среди возможных токсических эффектов гликлазида можно выделить выраженную гипогликемию и угнетение глутатионового звена системы АОЗ. Для субхронического воздействия фенсукцинала и диакамфа характерны дозозависимые изменения функционального состояния МОС и активация процессов ПОЛ в микросомах печени крыс.

Для оценки иммунологической реактивности исследовали активность нейтрофилов и уровень цитокинов ФНО- $\alpha$  и ИЛ-4 в крови крыс после 30-кратного перорального введения фенсукцинала в дозе 500 мг/кг, диакамфа – 100 мг/кг, гликлазида – 500 мг/кг. Установлено, что под воздействием фенсукцинала и диакамфа достоверно увеличивается (в 1,3 и 1,4 раза) количество фагоцитирующих клеток (ФИ). Поглотительная способность нейтрофилов (ФЧ) достоверно увеличивается (в 1,2 раза) только после введения диакамфа. Отмечено существенное повышение показателей спонтанного НСТ-теста при воздействии всех АДС, при этом на фоне введения диакамфа оно было наиболее выражено и превышало контрольные значения в 4,8 раза (табл. 2). Это свидетельствует о стимуляции метаболической активности фагоцитов, связанной с генерацией активных форм кислорода.

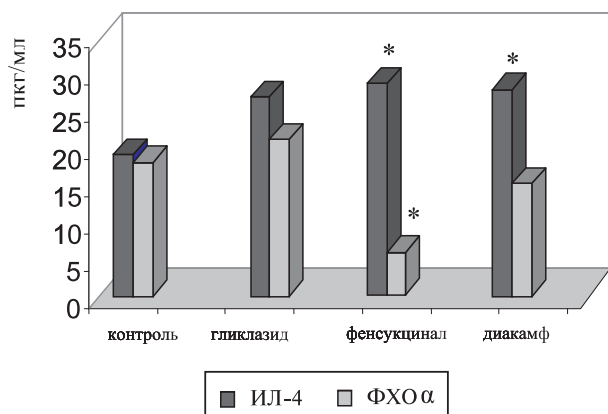


Рис. 3. Изменения уровня цитокинов в крови при субхроническом воздействии антидиабетических средств  
\* –  $p < 0,05$

Субхроническое воздействие фенсукцинала и диакамфа вызывает также снижение активности ЕКК (в 2,4 и 1,8 раза сравнительно с контролем, соответственно) (табл. 2), что является проявлением антицитотоксической активности АДС при их введении в вышеуказанных дозах.

Исследования уровня цитокинов в крови показали, что все изученные АДС вызывают достоверное повышение уровня ИЛ-4, принимающего участие в регуляции специфических иммунных реакций. Учитывая, что ИЛ-4 играет ключевую роль в регуляции синтеза IgE, такая направленность изменений этого показателя может свидетельствовать о возможности усиления процессов сенсибилизации, а, соответственно, и увеличения риска развития аллергических реакций на фоне воздействия АДС в указанных дозах. При исследовании уровня провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  выявлено его достоверное снижение в 3,2 раза при воздействии фенсукцинала, что можно рассматривать как проявление его противовоспалительной активности на уровне испытанной дозы (рис. 3).

Таким образом, можно констатировать, что все изученные АДС оказывают значительное влияние на состояние иммунного гомеостаза. Выявленные изменения иммунологических показателей свидетельствуют о высокой чувствительности иммунной системы к действию данных АДС.

**Заключение.** Антидиабетические средства фенсукцинал, диакамф (производные дикарбоновых кислот) и гликлазид (производное сульфонилмочевины) в динамике субхронической пероральной экспозиции вызывают изменения отдельных компонентов прооксидантно-антиоксидантной системы, а также влияют на различные звенья иммунной системы крыс.

Особенностью субхронического воздействия гликлазида ( $1/20 DL_{50}$ ) является выраженная гипогликемия в сочетании с некоторыми изменениями со стороны белкового и липидного метаболизма, носящими в основном компенсаторно-приспособительный характер, а также угнетение активности системы АОЗ.

Для субхронического воздействия фенсукцинала (1/20 и 1/100 DL<sub>50</sub>) и диакамфа (1/10 DL<sub>50</sub>) характерны активация процессов свободнорадикального пероксидного окисления с образованием избытка метаболитов ПОЛ, а также изменения содержания одного из основных компонентов МОС – цитохрома P<sub>450</sub> (фенсукцинал) в микросомах печени крыс.

Общими проявлениями влияния гликлазида, фенсукцинала (500 мг/кг) и диакамфа (100 мг/кг) на состояние иммунологического гомеостаза являются стимуляция метаболической активности фагоцитарного звена иммунитета, а также изменения уровня цитокинов, отражающие усиление процессов сенсибилизации, и, соответственно, повышение риска развития аллергических реакций. Фенсукцинал проявляет антицитотоксическую и противовоспалительную активность, диакамф – антицитотоксическое действие.

Выявленные особенности субхронического воздействия АДС на состояние биохимического и иммунологического гомеостаза крыс следует учитывать при установлении критериев их хронической токсичности с целью обоснования гигиенических нормативов.

#### Список литературы

1. Горбенко Н.І. Патогенетичне обґрунтування ефективності похідного янтарної кислоти – фенсукцинала в терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень // Автореф. дисс.... д-ра біол. наук. – Харків, 2004. – 36 с.
2. Немченко А.С., Жирова И.В. // Провизор, 2004. – № 17. – С. 14-17.
3. Мерзлікін С.І. Розробка і стандартизація оригінального антидіабетичного засобу на основі (±)-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонової кислоти // Автореф. дисс. ... д-ра фарм. наук. – Харків, 2004. – 36 с.
4. Губський Ю.І., Задоріна О.В., Яницька Л.В. // Мед. хімія, 2004. – Т. 6. – № 3. – С. 157-160.
5. Почерняева В.Ф., Цебржинский О.И., Шиш Н.В. // Буковинський медичний вісник, 2005. – Т.9. – № 2. – С. 212-214.
6. Стефанов А.В., Викторов А.П., Мальцев В.И. и др. // Соврем. пробл. токсикол., 2002. – № 3. – С. 4-15.
7. Прохорова М.И., Тупикова З.Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1965. – 218 с.
8. Панченко Н.И. Методические указания к лабораторным работам по клинической биохимии. – Харьков: ХДМУ, 1991. – 116 с.
9. Кондрахин И.П., Курилов Н.В., Малахов А.Г. и др. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: Справочное издание. – М.: Агропромиздат, 1985. – 286 с.
10. Лемешко В.В. // Биохимия, 1980. – Т. 45. – Вып. 11. – С. 1964 – 1969.
11. Omura T., Sato R. // J. Biol. Chem., 1964. – V. 239. – № 7. – P. 2379-2385.
12. Владимиров В.А., Суслов Т.Б. Сверхслабое свечение в биологии // Тр. МОИП. – М.: Наука, 1974. – С. 38-51.
13. Bredford M.M. // Anal. Biochem., 1976. – V. 72. – P. 248-252.
14. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-64.
15. Стальная И.Д., Гаришвили Г.Т. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 73-78.
16. Мишенева В.С., Горюхина Т.А. // Вопр. онкологии., 1968. – Т. 14. – № 10. – С. 46-49.
17. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. // Лаб. дело, 1988. – № 1. – С. 16.
18. Костюк В.А., Потопович А.И., Ковалева Ж.В. // Вопр. мед. химии, 1990. – Т. 36. – № 2. – С. 88-91.
19. Иммунологические методы / Пер. с нем. под ред. Г.Фримеля. – М.: Медицина, 1987. – С. 382-385.
20. Меньшиков В.В., Делекторская Л.И., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. – М.: Медицина, 1987. – 386 с.
21. Кузовкова Н.А. // Иммунология, 1991. – № 4. – С 59–61.
22. Weekes A.J. // Укр. мед. часопис, 2002. – Т. 6. – № 3. – С. 6-14.
23. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – Киев: Черныбыльинтеринформ, 1997. – 340 с.

Материал поступил в редакцию 06.07.07.

I.A.Palagina, M.Ya.Kudrya, V.V.Kozar, A.V.Kudrya

## SINGULARITIES OF METABOLIC AND IMMUNOLOGIC CHANGES IN THE RAT ORGANISM AT SUB-CHRONIC EXPOSURE TO ANTI-DIABETIC PREPARATIONS

V.Ya.Danilevskiy Institute of Endocrine Pathology Problems, Ukrainian Academy of Medical Sciences, Kharkov

In experiments on rats it was found out that a sub-chronic exposure to anti-diabetic drugs (ADDs) Phensuccinal, Diacamph and Glyklaside induces changes in the status of the monooxygenase system, processes of free radical peroxidation, system of anti-oxidant protection and status of the immune system. Singularities of the effects posed by ADDs on the organism can be used for setting criteria of their toxicity for substantiating hygienic regulations.

УДК 612.646.014.46

А.В.Лобанов<sup>1\*</sup>, О.Н.Хохлова<sup>1</sup>, Л.А.Захарова<sup>1</sup>, И.Ю.Зарайская<sup>2</sup>, А.Н.Мурашев<sup>1</sup>

## МОДЕЛЬ ДЛЯ АНАЛИЗА НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ПО ОЦЕНКЕ СОМАТОСЕНСОРНОГО СОЗРЕВАНИЯ У МЫШЕЙ

<sup>1</sup>Лаборатория биологических испытаний, Филиал института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино

<sup>2</sup>Отдел системогенеза, НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАМН, Москва

Для создания модели нарушения эмбрионального развития мышей использовалось стандартное вещество цитозинарабиноза (Ага-с), которое является ингибитором синтеза ДНК и обладает сильным цитотоксическим свойством в отношении делящихся клеток. Вещество вводилось в критический период развития коры мозга мышей. Изучались последствия введения Ага-с на 12,5–13,5 пренатальные сутки и на 13,5–14,5 пренатальные сутки в отношении соматосенсорного развития у мышей в постнатальный период. Для тестирования потомства использовалась модифицированную батарею Фокса. В результате работы было показано, что такая разница в сроках введения вещества приводит к разным нейротоксическим нарушениям у потомства, обнаруженным в ряде сенсомоторных тестов. Данная модель позволяет проводить тонкий анализ нейротоксического действия новых фармакологических веществ на эмбриональное развитие мышей.

**Ключевые слова:** мыши C57BL/6, беременность, цитозинарабиноза, нейротоксическое действие, фармакологическая модель.

**Введение.** Изучение антенатального повреждающего нейротоксического действия фармакологических веществ при помощи поведенческих тестов в постнатальный период развития потомства возможно двумя методическими подходами. Первый метод называется кросс-секционным и заключается в поэтапном тестировании животных в определенном возрасте в соответствии с постепенным развитием поведения в постнатальный период. Он позволяет оценить наиболее серьезные нарушения развития животных на последних этапах формирования изучаемых признаков [11]. Этот подход лег в основу международных OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [4] и американских EPA (U.S. Environmental Protection Agency) [7] руководств по изучению антенатального повреждающего нейротоксического действия фармакологических веществ на потомстве животных. В отечественной доклинической практике в подобных исследованиях возможно использование как кросс-секционного, так и второго – лонгитудинального метода, который позволяет оценивать изучаемый показатель в динамике в течение нескольких дней его формирования [2]. Причем, в соответствии с отечественными и зарубежными протоколами по изучению антенатального повреждающего действия веществ, исследования преимущественно проводятся на крысах; исполь-

зование других видов животных возможно, но требует корректировки методов и сроков исследования. В нашей работе применялся лонгитудинальный метод, специально разработанный для исследования постнатального развития мышей и позволяющий оценить соматический и неврологический статус у развивающихся животных. Для его апробации была использована модель фармакологического нарушения развития коры мозга в эмбриональном периоде у мышей [5, 10, 12]. В качестве нейротоксического агента использовалось стандартное вещество – цитозинарабиноза (Ага-с), которое является ингибитором синтеза ДНК и обладает мощным тератогенным действием [8, 9, 10].

Целью работы было оценить адекватность метода для использования в изучении антенатального повреждающего действия веществ.

**Материалы и методы исследования.** В экспериментах использовали мышей C57BL/6 SPF-статуса, полученных из питомника лабораторных животных ФИБХ РАН, Пушкино. У самок получали датированную беременность. На 12,5 и 13,5 эмбриональные сутки (ЭС) самкам первой опытной группы и на 13,5–14,5 ЭС – второй опытной группы животных внутривенно вводили цитозинарабинозу (1-β-D-Arabinofuranosylcytosine) (Sigma) в дозе 3 мг/кг. Контролем к этим группам служили животные, самки которых получали растворитель – 1% диметилсульфоксид (Dimethyl Sulfoxide (DMSO)) (Servie)

\* Фрагмент диссертационной работы

Таблица 1

Распределение животных по группам в эксперименте

Группа	Вводимое вещество	Эмбриональные сроки введения вещества	Количество животных (n)
DMSO 1	растворитель DMSO	12,5–13,5	26
DMSO 2	растворитель DMSO	13,5–14,5	25
DMSO + Ara-c 1	DMSO + Ara-c	12,5–13,5	30
DMSO + Ara-c 2	DMSO + Ara-c	13,5–14,5	30

в те же сроки беременности, что и соответствующая опытная группа (табл. 1).

Для тестирования потомства использовали батарею тестов по оценке развивающегося поведенческого фенотипа мышей, разработанную в НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАМН [1] и представляющую собой расширенную модификацию батарей сенсомоторных тестов [3, 6]. Тестирование животных проводили непрерывно в период с 1 по 21 сутки после рождения. Все манипуляции с животными осуществляли в соответствии с требованиями институтской комиссии по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных.

**Результаты и обсуждение.** Результаты проведенных тестов позволили оценить влияние Ara-c, введенной в период беременности, на соматическое и соматосенсорное развитие потомства. В работе представлена часть полученных экспериментальных данных.

Наиболее важным показателем соматического развития животных является динамика массы тела. В результате исследования этого показателя было установлено, что при первом сроке введения (12,5–13,5 ЭС) Ara-c не оказывала существенного влияния на физическое развитие потомства. Однако при втором сроке введения (13,5–14,5 ЭС) этого вещества наблюдалось значительное отставание в увеличении массы тела у мышей как по сравнению с соответствующей контрольной группой, так и в отношении первой опытной группы (рис.).

Аntenатальное повреждающее нейротоксическое действие препарата изучалось по формированию сенсомоторных реакций в постнатальный период. У животных первой опытной группы (DMSO + Ara-c 1) способность переворачиваться на горизонтальной поверхности, а также способность подниматься и спускаться по вертикальному канату характеризовались более бы-

Таблица 2

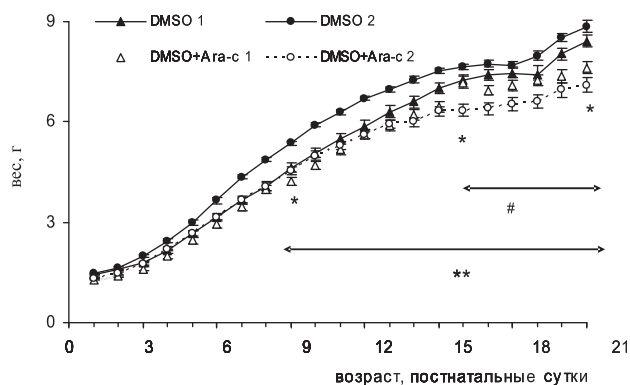
Изменение показателей сенсомоторного развития у мышей с пренатальным введением Ara-c относительно контроля

Показатель	Постнатальные сутки	Изменение показателя, %	
		DMSO + Ara-c 1	DMSO + Ara-c 2
Негативный геотропизм	1	-32**	10
	2	0	0
Переворачивание	2	21**	-5
	3	-2	3
Визуальный плейсинг	14	-1	-24**
	15	-33*	-43**
	16	-28*	-10
Удержание на вертикальной сетке головой вверх	10	-17**	0
Удержание на вертикальной сетке головой вниз	10	-37*	-47**
	11	-29*	-24**
	12	-2	-10
Подъем по вертикальному канату	10	24*	34**
Спуск по вертикальному канату	13	22*	16**
	14	20**	-11
	15	22**	2

Примечания: \* –  $p < 0,05$  различия между группами DMSO 1 и DMSO+Ara-c 1 по Фишеру, критерий  $\chi^2$

\*\* –  $p < 0,05$  различия между группами DMSO 2 и DMSO+Ara-c 2 по Фишеру, критерий  $\chi^2$

# –  $p < 0,05$  различия между группами DMSO+Ara-c 1 и DMSO+Ara-c 2 по Фишеру, критерий  $\chi^2$



**Рис. Постнатальная динамика массы тела у мышей C57BL/6 с пренатальным введением Ага-с**

\* –  $p < 0,05$  различия между группами DMSO 1 и DMSO+Ara-c 1 по тесту Ньюмана-Кеулса

\*\* –  $p < 0,05$  различия между группами DMSO 2 и DMSO+Ara-c 2 по тесту Ньюмана-Кеулса

# –  $p < 0,05$  различия между группами DMSO+Ara-c 1 и DMSO+Ara-c 2 по тесту Ньюмана-Кеулса

стрыми темпами развития на начальных этапах созревания в сравнении с контрольной группой. В то же время, негативный геотропизм, способность удерживаться на вертикальной сетке головой вверх и вниз, зрительный плейсинг развивались с отставанием по сравнению с контролем на аналогичных начальных этапах (табл. 2).

У животных второй экспериментальной группы (DMSO+Ara-c 2) в формировании способности переворачиваться на горизонтальной поверхности и развитии реакции негативного геотропизма аномалий относительно контроля обнаружено не было. Однако были найдены отставания в формировании визуального плейсинга и способности удерживаться на сетке головой вверх и вниз, а также ускорение в развитии способности передвигаться по канату в обоих направлениях в сравнении с контролем (табл. 2). Межгрупповое сравнение экспериментальных групп мышей с различными сроками пренатального воздействия Ага-с показало, что у животных первой группы по сравнению со второй сенсорные нарушения многочисленнее и выраженнее, что свидетельствует о более сильном нейротоксическом действии Ага-с при введении на 12,5–13,5 ЭС. Причем этот эффект выявлен на фоне меньшего физического отставания в развитии. У животных второй группы, несмотря на выраженное отставание в соматическом созревании, нейротоксическое воздействие Ага-с было ниже.

**Заключение.** Таким образом, данный метод исследования антенатального повреждающего действия антипролиферативного агента Ага-с позволил выявить токсическое действие вещества и провести его тонкую оценку в зависимости от сроков введения препарата. Причем, нейро-

токсические эффекты были обнаружены на начальных этапах формирования исследуемых показателей развития, что является достоинством лонгитудинального метода исследования.

#### Список литературы

1. **Зарайская И.Ю., Александрова Е.А.** Сравнительный подход к изучению системогенеза ранних поведенческих актов // XVIII съезд физиологического общества им И.П.Павлова: тез. докл. – Казань, 2001. – С. 93.

2. **Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.** Под ред. Р.У.Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

3. **Altman J.** Postnatal development of locomotion in the laboratory rat // *Anim. Behav.*, 1975. – V. 23. – P. 896-920.

4. **Draft Test Guideline 426: Developmental Neurotoxicity Study [Электронный ресурс].** – Электрон, дан. (1 файл). – 2006.- Режим доступа <http://www.oecd.org/dataoecd/20/52/37622194.pdf> – Загл. с экрана.

5. **D'Sa C.** Caspase regulation of genotoxin-induced neural precursor cell death, C. D'Sa, B.J.Klocke, F. Cecconi // *J. Neurosci. i Res.*, 2003. – V. 74. – № 3. – P. 435-45.

6. **Fox M.W.** Reflex-ontogeny and behavioral development of the mouse // *Anim. Behav.*, 1965. – V. 13. – P. 234-241.

7. **Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.6300 Developmental Neurotoxicity Study [Электронный ресурс].** – Электрон, дан. (1 файл). – 2006.- Режим доступа [http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS\\_Harmonized/870\\_Health\\_Effects\\_Test\\_Guidelines/Series/870-6300.pdf](http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS_Harmonized/870_Health_Effects_Test_Guidelines/Series/870-6300.pdf). – Загл. с экрана.

8. **Mikita T.** Functional consequences of the arabinosylcytosine structural lesion in DNA // *Biochemistry*, 1988. – V. 27. – № 13. – P. 4698-705.

9. **Ohno M.** Neuroanatomical study of somatomotor cortex in microcephalic mice induced by cytosine arabinoside // *Brain Dev.*, 1984. – V. 6. – № 6. – P. 528-38.

10. **Takano T.** Neuronal apoptosis and gray matter heterotopia in microcephaly produced by cytosine arabinoside in mice // *Brain Res.*, 2006. – V. 1089. – № 1. – P. 55-66.

11. **Williams E.** The development of social behavior patterns in the mouse, in relation to natural periods // *Behavior.*, 1953. – V. 6. – P. 35-64

12. **Yamauchi H.** Involvement of p53 in 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine-induced rat fetal brain lesions // *Neurotoxicol. Teratol.*, 2004. – V. 26. – № 4. – P. 579-86.

Материал поступил в редакцию 03.07.07.



A.V.Lobanov<sup>1</sup>, O.N.Khokhlova<sup>1</sup>, L.A.Zakharova<sup>1</sup>, I.Yu.Zarayskaya<sup>2</sup>, A.N.Murashov<sup>1</sup>PATTERN FOR ANALYZING NEUROTOXIC EFFECT ON THE EMBRYONIC DEVELOPMENT  
BASING ON SOMATOSENSORY MATURATION IN MICE<sup>1</sup>Laboratory of Biological Assays, Branch of M.M.Shemyakin and Yu.A.Ovchinnikov Institute of Biological Chemistry,  
Russian Academy of Sciences, Pushchino<sup>2</sup>Division of System Genesis, P.K.Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow

To create a pattern of lesion of the embryonic development in mice, a standard substance cytosine arabinoside (Ara-c) was used. Ara-c is an inhibitor of DNA synthesis and produces a strong cytotoxic effect on dividing cells. The substance was administrated in critical periods of the development of cerebral cortex in mice. Consequences of Ara-c administration were investigated on 12.5 and 13.5 prenatal days and on 13.5 and 14.5 prenatal days in relation to the somatosensory development in mice within the postnatal period. Fox battery was used for testing the posterity. The results showed that such a difference in the time of administration of the substance led to different neurotoxic lesions in the posterity which were found out in a number of sensomotor assays. The present pattern allows to perform a refined analysis of neurotoxic effects posed by newly developed pharmacologic preparations on the embryonic development in mice.

УДК 614.715.08

А.А.Масленников, М.М.Тобольская-Поспелова, Э.С.Ермилова

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ  
КОНЦЕНТРАЦИИ ЗОМАНА В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЁННЫХ МЕСТ*Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии, Волгоград*

Хроническое круглосуточное ингаляционное воздействие зомана в концентрации  $1,0 \cdot 10^{-6}$  мг/м<sup>3</sup> сопровождается минимальными обратимыми обще-, иммуно- и гонадотоксическими проявлениями.

Предельно допустимая концентрация зомана в атмосферном воздухе населённых мест обоснована на уровне  $5,0 \cdot 10^{-7}$  мг/м<sup>3</sup>.

**Ключевые слова:** атмосферный воздух, зоман, ингаляционное поступление, хроническая интоксикация.

**Введение.** Выполнение конвенциональных программ химического разоружения [1] предусматривает обеспечение безопасности персонала объектов уничтожения химического оружия, населения, проживающего вблизи от них, а также исключение негативного воздействия на основные экосистемы. Однако необходимое в этой связи осуществление мониторинга производственной и природной среды возможно только при наличии соответствующих стандартов безопасности.

К настоящему времени для отравляющих веществ, подлежащих ликвидации (в том числе зомана), определены безопасные уровни их содержания в воде, почве, воздухе рабочей зоны, при загрязнении технологического оборудования и трансэпидермальном поступлении. В то же время, для вышеуказанного соединения отсутствует гигиенический норматив его содержания в атмосферном воздухе населенных мест, что и предопределило цель настоящих исследований.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования служил образец О-(1,2,2-триметилпропил)метилфторфосфоната (зомана) с

содержанием основного действующего начала 98%. Характеристика токсических проявлений соединения проведена в соответствии с действующими методическими указаниями [2].

На начальном этапе работы для оценки биологической активности вещества в условиях острых опытов определяли его основные параметры токсикометрии.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) токсиканта была установлена в ходе хронического эксперимента. При выборе уровней хронического поступления ксенобиотика в качестве максимального использовали экспериментально обоснованную величину его ПДК в воздухе рабочей зоны ( $1,0 \cdot 10^{-5}$  мг/м<sup>3</sup>) [3]. Кроме того, с целью определения возможной зависимости концентрация-эффект вещество испытывали на уровне  $1,0 \cdot 10^{-6}$  мг/м<sup>3</sup>.

Минимальная величина ингаляционного поступления соединения составляла  $5,0 \cdot 10^{-7}$  мг/м<sup>3</sup>, в пять раз превышающая значение его ориентировочно безопасного уровня воздействия [4].

Всего в исследованиях использовано 412 белых беспородных крыс (198 самцов и 214 самок)

с исходной массой тела 180–220 г. Содержание, питание, уход за животными и их умерщвление осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755).

На протяжении 3-х месяцев особи всех групп находились круглосуточно в ингаляционных камерах Курляндского с динамической подачей воздуха. В процессе всего периода поступления вещества осуществляли ежедневный осмотр животных с целью выявления клинических признаков интоксикации. С учётом особенностей токсического влияния зомана, выявленных ранее при разных путях его введения [3, 5], по окончании каждого месяца эксперимента проводили обследование крыс с применением унифицированного набора физиологических, гематологических, биохимических, патоморфологических, гистоэнзимологических и иммунологических методов.

Кроме того, исследовали возможность развития отдалённых последствий действия вещества на организм лабораторных животных. При этом анализировали мутагенные свойства соединения с применением скрининговых тестерных систем, нацеленных на выявление мутаций разных типов (тест Эймса, микроядерная проба, метод доминантных летелей), а также его влияние на репродуктивную функцию обследуемых лабораторных грызунов [6].

Полученные экспериментальные данные подвергали статистической обработке с применением методов, адекватных виду эмпирического распределения изучаемых показателей [7], изменения которых считали достоверными при  $p < 0,05$ . Статистическая группа составляла не менее 8 особей.

**Результаты и обсуждение.** В процессе проведения острых опытов установлено практически идентичное соответствие токсичности тестируемого ксенобиотика его общеизвестным параметрам [8].

При выполнении хронического эксперимента определено, что регламентируемое соединение не вызывало у подопытных животных каких-либо видимых клинических проявлений.

Однако анализ полученных данных позволил установить статистически значимые, в сопоставлении с контролем, отклонения функциональных показателей, носивших явную зависимость концентрация-эффект (табл.).

В частности, поступление токсиканта на уровне  $1,0 \cdot 10^{-5}$  мг/м<sup>3</sup> вызывало у крыс многочисленные достоверные сдвиги (25 отклонений в сравнении с контролем).

При этом, к наиболее патогенетически значимым нарушениям можно отнести снижение

суммационно-порогового показателя (СПП) после 1 и 3-х месяцев воздействия с последующим его повышением в восстановительном периоде (восст. пер.), достоверное изменение двигательной активности, содержания эритроцитов, а также относительной массы ряда внутренних органов (табл.).

При определении биохимических показателей крови у подопытных особей рассматриваемой группы выявлены отклонения, сходные с таковыми при других путях поступления ксенобиотика [3, 5].

Подтверждением вредного действия соединения в рассматриваемой концентрации, наряду с широтой негативных проявлений, является и их глубина, в частности, выход ряда показателей (5 значений) за пределы бисигмальных отклонений параллельного контроля.

Помимо этого установлено, что отдельные нарушения зачастую воспроизводились из месяца в месяц, включая восстановительный период, что свидетельствует о стойкости обнаруженной патологии.

Обширность отмеченных сдвигов, их характер и особенности динамики позволяют считать выявленный комплекс изменений патогенетически значимым, а концентрацию вещества  $1,0 \cdot 10^{-5}$  мг/м<sup>3</sup> – действующей по общетоксическому эффекту.

Хроническая ингаляция токсиканта на уровне  $1,0 \cdot 10^{-6}$  мг/м<sup>3</sup> также приводила к ряду функциональных изменений у подопытных особей, проявившихся, однако, в несколько меньшей степени (17 показателей). При этом токсическое влияние ксенобиотика обнаруживалось на всех уровнях организации организма: от системного до молекулярного (табл.). Однако данные отклонения не сохранялись более 1 месяца, не воспроизводились по завершении периода восстановления, носили «мозаичный» характер. Кроме того, в процессе оценки состояния животных данной группы не выявлено изменений, выходящих за пределы двух сигм контрольных значений. Учитывая изложенное, концентрацию зомана  $1,0 \cdot 10^{-6}$  мг/м<sup>3</sup> следует признать в качестве пороговой по хроническому общетоксическому действию.

В то же время, воздействие зомана в концентрации  $5,0 \cdot 10^{-7}$  мг/м<sup>3</sup> не вызывало каких-либо нарушений в состоянии крыс на протяжении всего эксперимента, что характеризует данную величину зомана как недействующую. На основании установленных параметров токсикометрии вещество отнесено к 1-му классу опасности [9].

В процессе проведения иммунологических исследований определено, что зоман в условиях

## Достоверные изменения, обнаруженные в процессе хронического воздействия зомана

Показатель, единицы измерений	Срок наблюдения	Концентрации зомана, мг/м <sup>3</sup>			
		1,0·10 <sup>-5</sup>	1,0·10 <sup>-6</sup>	5,0·10 <sup>-7</sup>	Контроль
<i>Физиологические исследования</i>					
СПП, вольты	1 месяц	2,45±0,09	-	-	3,08±0,12
	3 месяца	2,60±0,11	-	-	3,10±0,15
	восст. пер.	2,89±0,11**	-	-	2,14±0,08
Горизонтальная активность, усл. ед.	3 месяца	21,10±1,73	-	-	15,22±1,38
	восст. пер.	18,11±0,89	-	-	20,40±1,65
Вертикальная активность, усл. ед.	1 месяц	11,90±1,66	9,90±1,12	-	6,80±0,76
Суммарная активность, усл. ед.	1 месяц	-	38,51±2,03	-	29,00±2,73
	восст. пер.	30,11±0,87	-	-	34,91±1,90
<i>Гематологические исследования</i>					
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	1 месяц	5,47±0,06	5,26±0,10	-	5,71±0,07
Гемоглобин, г/л	2 месяца	-	112,94±2,97	-	126,60±4,59
	3 месяца	-	127,38±1,67	-	119,24±2,65
<i>Биохимические исследования</i>					
АХЭ эритроцитов, ммоль/(ч·л)	1 месяц	25,92±3,48	-	-	36,77±0,84
НЭ, мкмоль/(мин·мл)	1 месяц	4,54±0,25**	-	-	7,49±0,39
	восст. пер.	4,89±0,37	-	-	5,73±0,34
Мочевина, ммоль/л	3 месяца	4,543±0,310**	4,704±0,188	-	5,763±0,243
ПВК, мкмоль/л	3 месяца	93,30±6,83	93,60±2,08	-	73,83±4,16
Креатинин, мкмоль/л	2 месяца	82,06±1,29	-	-	77,20±1,03
	3 месяца	82,31±1,33	-	-	75,27±1,96
АСТ, мкмоль/(мин·л)	1 месяц	18,54±0,60	19,62±0,36	-	21,00±0,48
Глюкоза, ммоль/л	1 месяц	-	5,006±0,107	-	5,361±0,093
	3 месяца	3,929±0,096**	4,974±0,114	-	5,613±0,128
<i>Относительная масса внутренних органов</i>					
Сердце, г/кг	1 месяц	3,68±0,10**	3,58±0,10	-	3,22±0,08
Печень, г/кг	2 месяца	-	41,21±2,15	-	33,71±2,11
	3 месяца	27,34±0,73	29,65±0,92	-	32,08±0,77
Селезенка, г/кг	3 месяца	2,65±0,22	-	-	3,81±0,25
Надпочечники, г/кг	1 месяц	0,145±0,004	0,140±0,006	-	0,121±0,005
<i>Иммунологические исследования</i>					
Реакция агглютинации (РПА – О – антиген, Ig T)	2 месяца	2,93±0,04	3,00±0,13	-	3,31±0,03
	3 месяца	2,50±0,01	2,41±0,06	-	2,76±0,08
Иммуноглобулины, усл. ед.	1 месяц	15,52±1,92	-	-	22,67±2,43
Бактерицидность, %	3 месяца	-	66,12±2,20	-	81,22±3,89
<i>Гистохимические исследования</i>					
Гликоген печени, (балл)	1 месяц	2,62	-	-	4,70
Количество достоверных изменений		25	17	0	
Отклонения, превышающие 2σ контроля		5	0	0	

Примечание: АХЭ – ацетилхолинэстераза, НЭ – неспецифические эстеразы, ПВК – пировиноградная кислота, АСТ – аспарагиновая трансминаза, РПА – реакция пассивной гемагглютинации, \*\* – достоверные сдвиги, превышающие 2 сигмы контроля

хронического круглосуточного ингаляционно-го поступления оказывал негативное влияние на состояние иммунного статуса подопытных особей.

Оценка полученных результатов позволила принять уровень зомана 1,0·10<sup>-6</sup> мг/м<sup>3</sup> в качестве порогового по иммунотоксическому эффекту.

При изучении мутагенных свойств установлено, что в тесте Эймса вещество проявило генетическую активность средней степени.

Способность зомана влиять на частоту полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в костном мозгу лабораторных животных оценивали при его однократной ингаляции в субле-

тальных концентрациях на уровне 1/10 и 1/100  $CL_{50}$ .

Анализ представленных данных показал, что у самцов опытных групп отмечено увеличение численности ретикулоцитов с экстрануклеарными включениями, что свидетельствует о мутагенном действии химагента на соматические клетки.

При постановке метода доминантных летелей влияние зомана на генетические структуры гамет оценивали в рамках единого хронического эксперимента по изучению его обще – и гонадотоксических свойств на одних и тех же крысах.

В процессе выполнения исследований установлено следующее. Показатели гибели плодов, находящихся на стадиях развития как до, так и после имплантации, не имели статистически значимых межгрупповых различий. Соответственно не выявлено значимых отклонений и при определении общей смертности эмбрионов, что свидетельствует об отсутствии у тестируемого соединения способности проявлять мутагенную активность в половых клетках самцов крыс.

Исследование репродуктивной функции самцов животных показало, что зоман на уровнях  $1,0 \cdot 10^{-5}$  и  $1,0 \cdot 10^{-6}$  мг/м<sup>3</sup> оказывал гонадотоксическое действие, имеющее прямолинейную зависимость концентрация – эффект.

В частности, при анализе спермограммы подопытных особей, проведённом по окончании периода ингаляции, установлено, что поступление вещества в наибольшей концентрации сопровождалось выраженным изменением ряда показателей не только достоверно отличавшихся от соответствующих значений в контроле, но и выходящих за пределы их бисигмальных отклонений.

О выраженности токсического эффекта при воздействии соединения на репродуктивную функцию крыс рассматриваемой группы свидетельствует и тот факт, что по завершении восстановительного периода один из значимых показателей, характеризующих функциональную активность гамет – осмотическая резистентность, по-прежнему, имел статистически значимые отличия от параллельного контроля.

Кроме того, только у самцов данной группы обнаружено изменение состояния сперматогенеза, реализованное в существенном уменьшении численности канальцев, проходивших двухстадийный митотический цикл.

С учётом глубины и стойкости выявленных нарушений концентрация зомана  $1,0 \cdot 10^{-5}$  мг/м<sup>3</sup> охарактеризована как явно действующая по гонадотоксическому эффекту.

Наряду с отмеченным, хроническое поступление зомана в организм подопытных крыс в

концентрации  $1,0 \cdot 10^{-6}$  мг/м<sup>3</sup> вызывало менее выраженные, хотя и односторонние изменения отдельных показателей, характеризующих состояние репродуктивной функции животных. Однако выявленные отклонения не выходили за пределы двух сигм аналогичных контрольных значений и полностью нивелировались по окончании экспозиции.

Хроническая ингаляция тестируемого хемотоксиканта на уровне  $5,0 \cdot 10^{-7}$  мг/м<sup>3</sup> не сопровождалась видимыми нарушениями оцениваемой функции самцов.

С учётом изложенного, концентрация зомана  $1,0 \cdot 10^{-6}$  мг/м<sup>3</sup> принята в качестве пороговой, а  $5,0 \cdot 10^{-7}$  мг/м<sup>3</sup> – недействующей по гонадотоксическому эффекту.

Исследования состояния репродуктивной функции беременных и небеременных самок показали, что соединение в указанных выше уровнях не проявляло гонадо-, эмбриотоксической и тератогенной активности.

**Выводы.** 1. Зоман при ингаляционном пути поступления в организм лабораторных животных отнесен по параметрам токсикометрии к веществам I-го класса опасности.

2. При скрининговом тестировании на мутагенность исследуемое вещество проявляет генетическую активность, зафиксированную в тесте Эймса и микроядерной пробе.

3. В условиях хронического круглосуточного ингаляционного воздействия зомана патогенетически значимыми являются обще-, гонадо- и иммунотоксические эффекты.

4. В качестве предельно допустимой концентрации зомана в атмосферном воздухе населённых мест обоснована величина  $5,0 \cdot 10^{-7}$  мг/м<sup>3</sup>.

#### Список литературы

1. Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении (исправленный вариант 8 августа 1994 г.). – PTS PC OPCW, 1994. – 191 с.

2. Временные методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. – М., 1988. – 109 с. Утверждены заместителем Главного государственного санитарного врача СССР А.И.Зайченко от 15.07.1988. Рег. № 4681–88.

3. Калинина Н.И., Преображенская Э.Л., Михайлов Г.М. и др. Экспериментальное обоснование предельно допустимых концентраций зарина и зомана в воздухе рабочей зоны: Заключительный отчет о НИР – инв. № 54. – Волгоград: НИИГТП, 1987. – 100 с.

4. ГН 2.1.6.1372-03. Гигиенические нормативы ориентировочных безопасных уровней воздей-

ствия загрязняющих (ОБУВ) веществ в атмосферном воздухе населенных мест и зонах защитных мероприятий объектов хранения и уничтожения химического оружия // *Росс. газета* № 116 от 18.06.2003. — С. 15.

5. **Кирюхин В.Г., Точилкина Л.П., Ходыкина Н.В. и др.** Экспериментальное обоснование предельно допустимого уровня загрязнения кожи зономом: *Заключительный отчет о НИР инв. № 586.* — Волгоград: НИИГТП, 2003. — 103 с.

6. *Унифицированные методические рекомендации комплексного изучения отдаленных последствий действия на организм химических веществ при их гигиеническом регламентировании / Под ред.*

*проф. Н.Н.Литвинова.* — М.: Ин-т биофизики МЭ СССР, 1981. — 164 с.

7. **Готов Н.В., Животовский Л.А., Хованов Н.В. и др.** *Биометрия: Учебное пособие.* — Л.: Изд. ЛГУ, 1982. — 264 с.

8. *Справочник № 3(86)-4 по свойствам веществ Списка 1 Конвенции по запрещению химического оружия.* — М., 1999. — С. 12-15.

9. *ГОСТ 12.1.007. ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.* — М.: Межгосударственный комитет по стандартам, 1982. — 5 с.

Материал поступил в редакцию 27.06.07.

**A.A.Maslennikov, M.M.Tobolskaya-Pospelova, E.S.Yermilova**

## EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF MAXIMUM ALLOWABLE CONCENTRATION OF SOMAN IN ATMOSPHERIC AIR OF RESIDENTIAL SETTINGS

*Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology, Volgograd*

Chronic 24-hour inhalation exposure to soman in a concentration of  $1.0 \cdot 10^{-6}$  mg/m<sup>3</sup> is accompanied by minimal reversible general, immune and gonadotoxic manifestations. Maximum allowable concentration of soman in atmospheric air of residential settings is set at the level of  $5.0 \cdot 10^{-7}$  mg/m<sup>3</sup>.

УДК 616.33-002.44-07:616.36-091.8

**М.А.Шахназаров, А.М.Шахназаров, М.Т.Расулов**

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ АЦЕТАТНОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА И ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕСТИЦИДА – ХЛОРОФОСА

*Дагестанская государственная медицинская академия,  
кафедра патологической анатомии, Махачкала*

Длительное пероральное поступление хлорофоса в дозе 1 ПДК (0,05 мг/л) при наличии язвы желудка активизирует компенсаторно-приспособительные метаболические процессы в гепатоцитах и в синусоидальных ретикулоэндотелиоцитах. Доза пестицида 10 ПДК угнетает окислительно-восстановительные ферменты митохондрий, микросом, активизирует гликолиз, снижает синтез РНК. Увеличение дозы поступающего перорально хлорофоса от 50 до 100 ПДК задерживает заживление язвы желудка у 80–90 % животных, обуславливает угнетение всех дегидрогеназ (до 50 %), кислую фосфатазу и моноаминоксидазу в гепатоцитах и щелочную фосфатазу во внутридольковой билиарной системе.

**Ключевые слова:** *печень, хлорофос, язва желудка, пенетрация.*

**Введение.** По данным ВОЗ (1990) значительную долю токсических экологических факторов составляют пестициды. Остаточные количества высокотоксичных запрещенных пестицидов продолжают обнаруживать в продуктах питания [5, 8]. Политропное токсическое действие пестицидов способствует возникновению или обострению у рабочих, контактирующих с пестицида-

ми, патологии гепато-билиарной системы и желудка [1, 2, 6, 7]. Дисфункция органов пищеварения обнаружена также у 90,8 % детей и у 76,3% жителей районов, где использовали пестициды в сельском хозяйстве [3, 4]. Несмотря на имеющиеся многочисленные исследования, посвященные токсикологии пестицидов, представляет научно-практический интерес изучение осо-

бенностей метаболических и структурных изменений в печени при их комбинации с язвой желудка и длительным воздействием наиболее широко используемого пестицида — хлорофоса, в дозах малой интенсивности.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования послужили белые беспородные крысы в количестве 75 штук, которые были разделены на четыре группы. В первой группе (40 крыс) была воспроизведена ацетатная язва желудка по методу Okabe—Pfeiffer, после чего животные получали перорально с питьевой водой в течение 6 месяцев раствор хлорофоса в дозах: 1 ПДК — 0,05 мг/л, 10 ПДК — 0,5 мг/л, 50 ПДК — 2,5 мг/л, 100 ПДК — 5 мг/л (по 10 крыс для каждой дозы). Контролем служили три группы животных: контроль I — животные после воспроизведения ацетатной язвы находились на обычном рационе (10 крыс); контроль II — животные без воспроизведения язвы, получавшие пестицид с питьевой водой (по 5 крыс для каждой дозы пестицида); контроль III — интактные (5 крыс).

Через 6 мес. опыта произведен забой животных. Проводили гистоморфологические и гистоэнзиматические исследования криостатных и парафиновых срезов тканей печени опытных и контрольных животных из области локализации язвы и отдаленной доли. Наряду с окрашиванием срезов гематоксилином-эозином, пикрофуксином, суданом III, ставили реакции на сукцинатдегидрогеназу (СДГ), лактатдегидрогеназу (ЛДГ),  $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназу ( $\alpha$ -ГФДГ), никотинамиддинуклеотид — диафоруазу (НАД), моноаминоксидазу (МАО), кислотную (КФ) и щелочную (ЩФ) фосфатазы, определяли содержание гликогена и РНК в печени с последующей компьютерной цитофотометрической оценкой. Обезболивание во время операции воспроизведения язвы желудка и эвтаназию экспериментальных животных проводили в соответствии с приказом МЗ СССР, № 755 от 12.08.77.

**Результаты и обсуждение.** В группе животных с введением хлорофоса в дозе 1 ПДК к окончанию сроков затравки все крысы выжили. Гистоморфологически в 8-ми случаях обнаружены зажившие и в 2-х случаях незажившие язвы желудка, как и в контроле I. У животных с незажившей язвой наблюдалась пенетрация её в печень, сопровождавшаяся значительно выраженной смешанноклеточной воспалительной инфильтрацией. Глубже среди зрелой новообразованной соединительной ткани видны комплексы желчных протоков и сосудов со склерозированными

стенками, оставшиеся после некроза и резорбции печеночной паренхимы. В пограничной зоне печеночные балочки дисконтактированы, атрофичны, с дистрофией и некробиозом отдельных гепатоцитов. Ядра одних гепатоцитов с кариопикнозом, других — гипертрофированные и гиперхромные, а синусоидные капилляры значительно расширены. В отдаленной от пенетрации язвы доле печени определяли гипертрофию и гиперхромность ядер гепатоцитов, усиление базофилии цитоплазмы.

Гистоэнзиматически в зоне пенетрации язвы желудка в печень активность СДГ, ЛДГ и НАД-диафоруазы снижалась в среднем на 27%, а  $\alpha$ -ГФДГ — на 10%, КФ повышалась на 40%. В то же время в отдаленной доле печени активность дегидрогеназ повышалась в среднем: СДГ — на 7%,  $\alpha$ -ГФДГ — на 11%, КФ — на 20%. Активность ЩФ, локализованная во внутридольковых билиарных капиллярах, собирательных канальцах и междольковых желчных протоках, была повышена: в зоне пенетрации — на 19%, в отдаленной доле перифокально — на 15%. Содержание гликогена и РНК в печеночной ткани было снижено непосредственно в зоне пенетрации (на 13%), а в отдаленных участках печени показатели оставались на уровне контрольных данных. Вместе с тем, у животных с зажившими язвами в пограничной области активность дегидрогеназ, КФ была выше, чем у животных с незажившими пенетрирующими язвами.

У животных с ацетатной язвой желудка, получавших раствор хлорофоса в дозе 10 ПДК, при макроскопическом исследовании у 8-ми крыс наблюдали неполное заживление язвы желудка (рис. 1). У 2-х крыс сохранялись пенетрирующие в печень язвы с развитием перифокального гепатита.

В зоне пенетрации снижалась активность СДГ на 13%, ЛДГ — на 16%, НАД-диафоруазы — на 27%,  $\alpha$ -ГФДГ — на 32%. В отдаленной доле

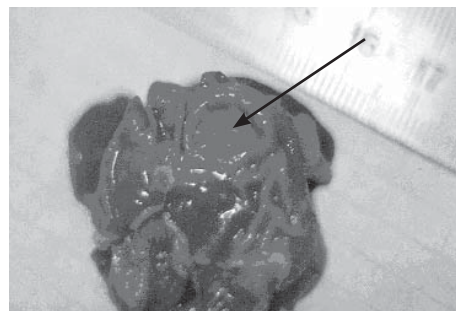
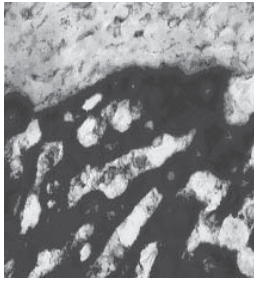
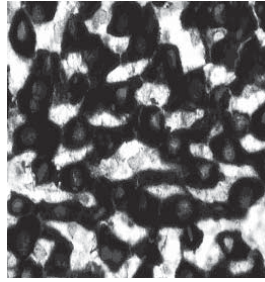


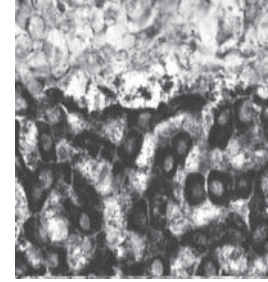
Рис. 1. Неполная регенерация слизистой оболочки в зоне хронической язвы желудка, пенетрирующей в печень, при введении хлорофоса в дозе 10 ПДК



**Рис. 2.** Умеренное снижение активности ЛДГ в гепатоцитах с диффузией продукта реакции в зоне пенетрации при заживлении язвы желудка на фоне воздействия хлорофоса в дозе 50 ПДК  
Реакция по Нахласу.  $\times 400$



**Рис. 3.** Распределение активности ЛДГ в печени у контрольного животного  
Реакция по Нахласу.  $\times 400$



**Рис. 4.** Снижение активности ЛДГ в гепатоцитах с перинуклеарной локализацией реакции в зоне пенетрации незажившей язвы при воздействии хлорофоса в дозе 50 ПДК  
Реакция по Нахласу.  $\times 400$

печени активность дегидрогеназ также снижалась: СДГ – на 9%, ЛДГ и НАД-диафороза – на 16%,  $\alpha$ -ГФДГ – на 17%. Активность КФ повышалась как в зоне пенетрации (на 31%), так и в отдаленной доле (на 20–22%). ЩФ во внутридольковых перибиллиарных зонах гепатоцитов и в собирательных канальцах Геринга повышалась: в зоне пенетрации – на 28%, в отдаленной доле печени – в среднем на 20%, что указывает на нарушение экскреции желчи гепатоцитами из долек в собирательные канальцы и на явления внутридолькового холестаза. Содержание гликогена в зоне пенетрации было снижено на 20 %, а РНК – на 11%, ослабление реакции на гликоген и РНК наблюдалось и в отдаленной доле печени – на 10 и 15% соответственно.

Среди животных, получавших хлорофос в дозе 50 ПДК, зарегистрировано 3 летальных случая. Макроскопически у 8-ми крыс на вскрытии сохранялись незажившие язвы желудка диаметром 0,4–1,0 см, глубиной до 0,4 см. Дно язвенных дефектов покрыто серовато-коричневым налетом и погружалось в ткань печени.

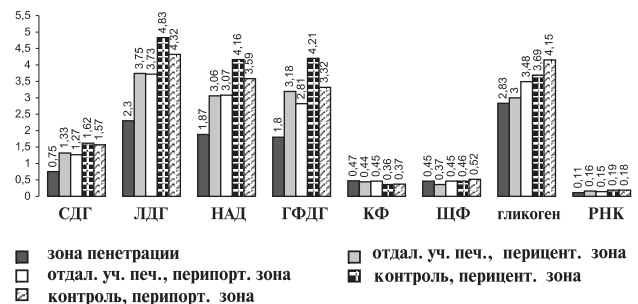
Гистологически в зоне пенетрации язвы в печень определялась значительно выраженная лимфоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофилов, распространяющаяся в глубь печени по ходу синусоидов и междольковой перипортальной стромы. При этом в пограничной зоне печеночная ткань была представлена полиморфными гепатоцитами с нарушением балочного строения, гипертрофией и гиперхромностью ядер с потерей базофильной зернистости цитоплазмы.

Активность дегидрогеназ в зоне пенетрации язвы желудка в печень и в отдаленной доле была снижена от 20 до 50%, тогда как с заживлением язвы – до 20% (рис. 2, 3, 4). Содержание гликогена и РНК в гепатоцитах падало до 30–39%. Повышенной оставалась лишь активность КФ – от 22 до 27%.

В группе животных с ацетатной язвой желудка и хроническим воздействием хлорофоса в дозе 100 ПДК погибло 2 крысы. У 9-ти животных обнаружены незажившие язвы; только в 1 случае язвенный дефект не обнаружен, хотя определялось истончение стенки желудка в виде дивертикула. Внутренняя поверхность его была покрыта тонким слоем слизистой оболочки без формирования складок.

Гистоморфологически в случаях с незажившими язвами в зоне пенетрации отмечалась значительно выраженная воспалительная инфильтрация в области дна и пограничной зоне печени в сочетании с вакуольно-жировой дистрофией печеночной паренхимы. Энзиматическая активность снижалась: СДГ – на 27 %, ЛДГ – на 18%, НАД-диафороза – на 16%,  $\alpha$ -ГФДГ – на 29%, КФ – на 9%, хотя выявлялись мелкие комплексы гепатоцитов среди рубцовой ткани с повышенной активностью дегидрогеназ и КФ.

Таким образом, наши исследования показывают, что у животных с язвой желудка, получавших хлорофос в дозе 1 ПДК, альтеративные и воспалительные изменения сохраняются лишь непосредственно в области дна пенетрирующей язвы в печеночную паренхиму. Кроме того, в от-



**Рис. 5.** Сравнительная фотометрическая оценка энзиматической активности и содержания гликогена и РНК в печени при пенетрации язвы желудка и хроническом воздействии хлорофоса в дозе 50 ПДК

даленной от язвы доле печени при сохранении обычного гистостроения паренхимы также наблюдаются метаболические изменения компенсаторного характера в виде некоторого повышения энзиматической активности, усиления синтеза ДНК в ядрах и гепаринсульфатов в цитоплазме гепатоцитов.

У животных, получавших раствор хлорофоса в дозе 10 ПДК (0,5 мг/л), в большинстве случаев выявлено неполное заживление язвенных дефектов. Активность всех дегидрогеназ в пограничных с дном язвы отделах печени была снижена, и в меньшей степени — в отдаленной от язвы доле, тогда как КФ и ЩФ повышалась во всех исследуемых зонах.

У 80–90% животных, получавших хлорофос в дозах 50–100 ПДК в течение 6 месяцев, сохранялись пенетрирующие в печень язвы желудка. Гистологически в зоне пенетрации язвы в печени определялась значительно выраженная альтерация и воспалительная инфильтрация, распространяющаяся в глубь по ходу междольковой стромы и синусоидов. Активность дегидрогеназ в печени, в зоне пенетрации язвы желудка, снижалась до 50%. В отдаленных участках печени активность дегидрогеназ и ЩФ также снижалась на 20%; повышенной оставалась лишь активность КФ. Установленная при этом диффузия продукта реакции свидетельствует о повреждении мембран митохондрий, микросом, лизосом, аппарата Гольджи.

**Выводы.** 1. Длительное пероральное введение хлорофоса в дозе 1 ПДК (0,05 мг/л) не оказывает заметного влияния на морфогенез язвы желудка, но активизирует компенсаторно-приспособительные процессы в печени за счет интенсификации внутриклеточного метаболизма.

2. Доза хлорофоса 10 ПДК (0,5 мг/л) обуславливает гипорегенерацию язвы, нарастание пенетрации язвы в печень, угнетение митохондриальных (СДГ,  $\alpha$ -ГФДГ) и микросомального (МАО) ферментов, усиление гликолиза с накоп-

лением молочной кислоты (повышением активности ЛДГ), падением синтеза РНК.

3. При увеличении дозы вводимого пестицида от 50 до 100 ПДК (2,5–5 мг/л) сохраняются пенетрирующие в печень язвы желудка у 80–90% животных и наступает угнетение всех дегидрогеназ, гидролитических ферментов лизосом (КФ) и аппарата Гольджи (ЩФ) в билиарных полюсах гепатоцитов.

#### Список литературы

1. Артамонова В.Г., Шаталов Н.Н. Интоксикация пестицидами, применяемыми при сельскохозяйственных работах // *Профессиональные болезни*. — М.: Медицина, 1996. — С. 342.
2. Бочкарёв М.В., Ботнарёв В.П., Василани А.Ф. и др. Клиника, дифференциальная диагностика и лечение хронических интоксикаций пестицидами. — Кишинев: Штиинца, 1979. — С. 33–41.
3. Гусейнова Н.М. Изучение активности некоторых ферментов печени при воздействии пестицидов. — Баку: Азерб. НИИ педиатрии им. Н.К.Крупской, 1990. — С. 6.
4. Думбрава В.А., Москалу Ю.Д., Кузьминская У.А. и др. Диагностика функциональной недостаточности печени у лиц, контактирующих с комплексом пестицидов // *Актуальные вопросы клинической и теоретической медицины: Сб. науч. ст.* — Кишинев, 1991. — С. 33–36.
5. Kannan K., Tanabe S., Guesy J.P. et al. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in foodstuffs from Asian and oceanic countries // *Rev. environ. contam. toxicol.*, 1997. — V. 152. — P. 1-55.
6. Каган Ю.С. Общая токсикология пестицидов. — Киев.: Здоров'я, 1981. — С. 169-173.
7. Фёдоров Л.А., Яблоков А.В. Пестициды — токсический удар по биосфере и человеку. — М.: Наука, 1999. — С. 461.
8. Чубрико М.И., Смольский Г.М., Басова Г.М. Влияние пестицидов на качество молочных продуктов // *Гигиена и санитария*, 1998. — № 2. — С. 23-25.

Материал поступил в редакцию 24.07.07.

M.A.Shakhnazarov, A.M.Shakhnazarov, M.T.Rasulov

### MORPHOLOGIC AND HISTOCHEMICAL CHANGES IN LIVER AT ACETIC ULCER AND CHRONIC EXPOSURE TO THE PESTICIDE CHLOROPHOS

State Medical Academy of Dagestan, Makhachkala

A long-lasting peroral uptake of chlorophos in a dose of 1 MAC (0.05 mg/l) in the presence of gastric ulcer activates compensatory and adaptable metabolic processes in hepatocytes and sinusoidal reticuloendotheliocytes. A dose of 10 MACs depresses redox enzymes in mitochondria and microsomes, activate glycolysis, decreases RNA synthesis. An increased dose of the peroral uptake of chlorophos from 50 to 100 MACs inhibits healing of the gastric ulcer in 80 to 90% of animals and causes depression of all dehydrogenases (up to 50%), acid phosphatase and monoaminoxidase in hepatocytes and alkaline phosphatase in intralobular biliary system.



## Интересные факты

УДК 615.9(091)

### ЕЩЕ ОДНО НАЗНАЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИИ ИЛИ К ИСТОРИИ ЗЛОНАМЕРЕННЫХ ОТРАВЛЕНИЙ\*

*Важность судебной химии  
с присовокуплением общей токсикологии  
и влияние ее на судебную медицину очевидна*  
**А. Нелюбин**

В минувшем веке сфера научной и практической деятельности токсикологов значительно расширилась. Приобрели приоритетную значимость такие ее области как клиническая токсикология, профилактическая (гигиеническая) токсикология, военная токсикология, экотоксикология, токсикология пестицидов, полимеров и пластических масс. В этом далеко не полном ряду возросла роль лекарственной токсикологии и ветеринарной токсикологии. А еще заметно активизировалась деятельность специалистов в судебно-токсикологической сфере. А. Нелюбин — автор известного руководства по судебной химии, говоря о токсикологии как «науке о ядах и противоядных средствах» особо подчеркивал, что «с одной стороны она дает возможность открыть обман или преступления, а, с другой стороны, удерживает злонамеренных людей от преступления и в этом случае оказывает нравственное влияние на общественный быт и сохранение народного здоровья».

Начиная с тридцатых годов XIX столетия и в первые десятилетия XX века во многих крупных медицинских учреждениях состоялась защита ряда диссертаций на судебно-химические и судебно-токсикологические темы. Только на медицинском факультете Московского университета, в Медико-хирургической академии и в Дерптском университете в этот период состоялось около 65 подобных защит. Тогда же были изданы и соответствующие руководства.

В дальнейшем во многих публикациях из области медицины и криминалистики встречаются столь подробные описания случаев отравлений, что они могут служить наглядными иллюстрациями того, как действуют на человека различные яды. С наиболее показательными из этих случаев, представляющих с позиций опыта токсикологии минувшего, ознакомим читателя.

**Гипотезы отравлений в уголовных процессах.** Речи известных юристов прошлого наиболее полно были представлены в сборнике издательства «Юридическая литература», вышедшем в конце 50-х годов прошлого столетия. Разумеется, этот сборник давно стал библиографической редкостью и, к сожалению, не переиздавался. А ведь в нем — поучительный опыт, интересные истории, примечательные обобщения. Свой краткий обзор с авторским комментарием начну с выступления адвоката Н.Холева по делу некоего Максименко, якобы отравленного толи мышьяком, толи сулемой. Между тем, имелись основания полагать, что погиб пострадавший не от яда, а от брюшного тифа, которым он болел на протяжении нескольких недель. Рассматривая гипотезу отравления мышьяком в своем выступлении на судебном процессе, Н.Холев поведал: «...Острое отравление мышьяком выражается при жизни упорной рвотой, неутолимой жаждой, чувством жжения в зеве и пищеприемнике, сильнейшими болями в животе, поносом с испражнениями кровянистыми или похожими на рисовый отвар (как при холере), судорогами, чувством ползания мурашек и т. д. Предсмертные припадки, указывающие на отравление острыми ядами, — мышьяком, сулемой и т. п., — суть следующее: жжение и стягивание во рту, на языке, в пищеприемном канале, желудке и кишках, чрезвычайно сильные боли в органах пищеварения, непрерывная тошнота, рвота, нередко кровавая, кровавый понос, почти незаметный пульс, неутолимая жажда, конвульсии и прочее». Я не случайно столь подробно процитировал упомянутого юриста, поскольку хотел, чтобы читатель смог убедиться, сколь важно знание признаков отравлений. Именно на основании описанной выше картины острой интоксикации адвокату удалось убедить присяжных заседателей в том, что Максименко погиб не от яда.

Еще одно дело, с которым хотел бы ознакомить читателя, — французенки Маргариты Жю-

\* Журнальная версия из «Книги о ядах и отравлениях» (на украинском языке). — Тернополь: Издательство ТГМА, 2007.

жан, рассматривавшееся в Санкт-Петербургском окружном суде в конце XIX столетия. Фабула этого дела, где в качестве защитника выступал видный адвокат К. Хартулари, обстоятельно изложена в опубликованном тексте его выступления. Обвинение возникло в связи с тем, что было заподозрено злонамеренное отравление гувернанткой Жюжан больного юноши, которому она давала лекарства. Экспертиза установила отравление морфием. И на многих других судебных процессах отравление морфием также, как острое и хроническое отравление мышьяком, фигурировало как проявление злого умысла. Известный немецкий публицист Юрген Торвальд в книге «Сто лет криминалистике», переведенной на русский язык, описывал несколько подобных процессов. Особенно поучительным представляется дело 23-летнего студента-медика К. Гароиса, обвиненного в отравлении девушки, с которой он был тайно обвенчан. Боясь разоблачения и гнева своего деда — известного нью-йоркского профессора, студент, воспользовавшись тем, что девушка жаловалась на бессонницу, дал ей в капсуле снотворного смертельную дозу морфия. Вечером у нее появились головокружение и сильная слабость. Затем она потеряла сознание. Вызванный к больной врач обратил внимание на резкое сужение зрачков — один из типичных признаков отравления морфием. В последующем токсиколог Р. Уитхаус обнаружил морфий в органах погибшей.

Этот процесс имел в дальнейшем неожиданное продолжение, поскольку побудил репортера одной из нью-йоркских газет И. Уайта спустя год вспомнить о данном случае и тем самым раскрыть еще одно давнее преступление, связанное с отравлением морфием. Дело в том, что врач Р. Буханан, проживавший в Гринвич-Виледж, стал главным действующим лицом необычного уголовного дела. Его жена Анни, которая была намного старше своего тридцатилетнего мужа, сделала его своим единственным наследником. Несмотря на это, их супружеская жизнь протекала в постоянных скандалах, и Анна угрожала мужу, что не даст ему более ни цента, если он не перестанет постоянно увлекаться женщинами и вином.

Буханан жаловался друзьям, что жена его — морфинистка и умрет, если не избавится от этого порока. Вскоре действительно ее не стало, и врач, лечивший Анни, констатировал смерть от кровоизлияния в мозг. Однако репортер имел основания заподозрить Буханана в убийстве своей жены, чтобы завладеть ее наследством. А на мысль, что оно было совершено с помощью морфия, натолкнули Уайта слова Буханана, доверительно заявившего своему приятелю, что осужденный студент Гаррис был дураком, пото-

му что дал себя уличить.

Дескать, при отравлении морфием «... можно избежать наказания. Каждой кислоте противостоит основание, и для каждой реакции имеется антиреакция». Уайт настойчиво стал добиваться от врача, констатировавшего смерть Анни, подробностей ее внезапной кончины и выяснил, что сужения зрачков у погибшей не было. Возобновившееся расследование доказало, что Буханан закапал в глаза отравленной жене атропин, предотвративший сужение зрачков. Тот же токсиколог Уитхаус, который выступал экспертом по делу студента Гарриса, обнаружил в эксгумированном трупе Анни морфий в опасных для жизни количествах. Самым примечательным на этом сенсационном процессе была демонстрация выступавшими на нем токсикологами ряда тестов, используемых при определении морфия. Как пишет Торвальд, это был «спектакль токсикологии».

О назначении морфия в отдельных публикациях можно узнать и в связи с такой проблемой, как эвтаназия. Как известно, дискуссия о ее нравственных аспектах не утихает вот уже многие годы. Примечательна история ухода из жизни одного из выдающихся мыслителей XX века Зигмунда Фрейда. Когда у него была обнаружена злокачественная опухоль, после нескольких безуспешных операций он попросил своего друга Феликса Дейга стать его лечащим врачом, поставив при этом как врач одно условие: если окажется, что рак неоперабельный, помочь уйти из жизни, дабы избежать долгого и мучительного конца. Когда осенью 1939 года страдания тяжело больного Фрейда стали невыносимыми, он напомнил своему другу о данном им обещании. Дейч колебался два дня, затем ввел ему морфий...

**Экспертиза Жوليو-Кюри.** Эти события разыгрались на юго-западе Франции, в Пуасте — землевладелица Мария Беснер из города Лудена обвинялась в отравлении мышьяком двенадцати человек. Именно этот процесс, беспрецедентный по своей длительности (семь лет), сделал в пятидесятых годах токсикологию центром всеобщего внимания и в то же время подверг ее методы серьезным испытаниям, что, впрочем, побудило специалистов к новым научным разработкам. Почему же токсикологические методы и проведенные химические анализы подверглись на первых двух процессах (всего их было три) сомнениям, затянувшим судебное разбирательство на много лет? Дело в том, что во главу угла в этих процессах был положен вопрос о происхождении мышьяка в трупах людей, смерть которых была вызвана злонамеренным отравлением. Известный токсиколог с юга Франции док-

тор Джордж Беру представил результаты своих исследований, свидетельствовавших о том, что в эксгумированных трупах присутствует мышьяк. Однако защита заявила о том, что Беру использовал старые методы и не проследил за точностью и аккуратностью записей лабораторных исследований.

В своем основном выступлении адвокат Готра выдвинул еще один, причем очень веский довод в пользу возникших сомнений. Вот выдержка из его выступления: «Эксперты обвинения утверждают, что яд мог попасть в организм пострадавшей только из рук Марии Беснер. Но уже более ста лет токсикологи занимаются вопросом, не попадает ли в трупы мышьяк, имеющийся в почве и воде. Уже более ста лет они отрицают его только потому, что забыли о происхождении жизни в почве, забыли, что в ней происходят тысячи процессов, о которых никто еще не знает. Два года эксперты измеряли растворимость мышьяка в дождевой воде на кладбище Лудена. Но они игнорируют открытия других наук о роли микроорганизмов в почве». Адвокат призвал в зал суда в качестве свидетелей микробиологов, высказывания которых о значении микроорганизмов для растворимости мышьяка в почве стали сенсацией. После их выступления в зал суда был приглашен один из видных ученых — член французской Академии наук и кавалер ордена Почетного легиона Поль Трюффер. Он однозначно заявил о том, что на основании своих экспериментов утверждает: почвенные микроорганизмы, особенно находящиеся в почве кладбищ, оказывают влияние на растворимость мышьяка и проникновение его в трупы, в частности в волосы.

Примечательно, что к этой проверке адвокату Готра удалось привлечь Фредерика Жолио-Кюри, который констатировал в определении радиоактивности ряд неточностей, хотя и полагал, что они не могли повлиять на заключение о наличии в волосах мышьяка. После его смерти экспертизу продолжил один из его учеников, Пьер Савель, который усовершенствовал метод радиоизотопного определения мышьяка и доказал, что последний в большом количестве содержится в волосах трупов из Лудена. Таким образом, наличие мышьяка в теле погибших более уже не вызывало сомнения.

Подобные примеры в сфере расследования предполагаемых умышленных отравлений ядами можно было бы продолжить. Тем более что многие из них расследовались и как причины самоубийства. В одних случаях это представлялось очевидным, в других — требовало в ходе следст-

вия экспертизы как токсикологов, так и судебных медиков. Известно, например, что две дочери Карла Маркса покончили жизнь самоубийством, хотя и по совершенно разным причинам. Муж одной из них — Элеоноры Эвелинг — оказался непорядочным человеком и вел беспутный образ жизни, чем и довел жену до самоубийства. Другая — Лаура, напротив, прожила долгие и счастливые годы совместной жизни с Полем Лафаргом. А затем вместе с ним приняла решение добровольно уйти из жизни. В день 70-летия Поля супруги, празднично одевшись и усевшись в кресла, покончили с собой с помощью цианистого калия. Здесь сомнений в причине их смерти не возникло.

**Примечательные версии.** Версия о том, что Адольф Гитлер и Ева Браун также покончили с собой, приняв цианистый калий, в последние годы опровергается. Хирург и эксперт судебной медицины Хью Томас утверждает, что фюрер вовсе не принимал яда. Дело в том, что согласно свидетельским показаниям Гитлер и Браун, будто бы принявшие яд, лежали на диване «в торжественном покое». Между тем, токсикологам и судебным медикам хорошо известно, что при отравлении цианистым калием, вызывающем мгновенную смерть, тела погибших в последние секунды извиваются и бьются в мучительных судорогах. Томас, опровергая общепринятую версию, пишет: «Если два человека, сидя рядом на диване, примут смертельную дозу цианида, не останется надежды на то, что все кончится благой сценой в уютных позах — голова блондинки на плече мужчины... Очень сомнительно, чтобы тела хотя бы оставались лежать на диване». Но это еще не все. Эксперт детально изучил хронику тех событий и выяснил, что результаты вскрытия и анализ полуобгоревших трупов, извлеченных из ямы возле бункера, свидетельствуют об одном странном обстоятельстве. В ротовой полости женского трупа были найдены осколки стекла и ощущался явный запах миндаля, в то время как в теле погибшей не оказалось даже следов цианистого калия. Между тем, токсикологам хорошо известно, что такой яд, как цианистый калий, сразу же поглощается организмом отравленного, проникая и в легкие, и в мозг, что и приводит к быстрой смерти. Кстати, именно типичную картину такого рода наблюдали судебные медики после вскрытия тел всех покончивших с собой членов семьи другого зловещего деятеля рейха — Геббельса. Из всего этого Томас делает вывод, что отсутствие в трупе женщины цианистого калия может свидетельствовать либо о том, что он был помещен в ротовую полость, когда она уже была мертва, либо о

том, что найденное тело вовсе не принадлежит Браун. Сомнения эксперта выглядят тем более оправданными, если принять во внимание, что в протоколе патолого-анатомического вскрытия отмечено следующее: грудь женщины была разворочена прямым попаданием шрапнели. А если это произошло еще при жизни, — рассуждает эксперт, — то о каком отравлении цианистым калием может идти речь?! Однако заключение патолого-анатомов гласит, что «несмотря на тяжелое ранение в грудь, непосредственной причиной смерти стало отравление цианистым калием».

Как же согласовать подобное заключение с тем, что яд в теле погибшей, как уже отмечалось выше, так и не был обнаружен? Самое примечательное состоит в том, что аномалия с нераспространившимся ядом, установленная Томасом на женском трупе, в точности повторилась и при исследовании мужского трупа. Эксперты констатировали и осколки стекла, и запах миндаля в ротовой полости погибшего. В то же время и в данном случае отмечалось полное отсутствие цианистого калия или какого-либо другого яда в исследованных тканях. Не случайно, когда в Москве ознакомились с подобными несоответствиями в материалах токсикологического заключения, было приказано провести дорасследование, и была предпринята операция «Миф». В результате возникла версия, в которой яд сменила пуля. Вспомнили и о том, что еще в экспертизе от 8 мая 1945 года было установлено, что у трупа мужчины, впоследствии идентифицированного с Гитлером, верхняя часть черепа частично отсутствовала.

Уместно заметить, что соратники фюрера по Третьему рейху, также, как и он, покончившие с собой с помощью яда, завоевали в этом смысле более определенную репутацию. И Геббельс со своей семьей, о чем уже упоминалось выше, и Гиммлер, и Геринг, и Борман закончили свой жизненный путь, прибегнув к цианистому калию. Свидетельство тому — документальные факты и заключение экспертов-токсикологов. Весьма примечательна история идентификации останков Бормана. Дело в том, что только в 1972 году во время строительных работ неподалеку от предполагаемого места его захоронения, на которое еще в 1965 году указал почтовый служащий А. Крумпф, было обнаружено истлевшее тело Бормана, которое опознали лечившие его при жизни врачи — профессор-стоматолог Блашке, его ассистентка Хойзерман, а также зубной техник Эхтман. Прокуратура Франкфурта-на-Майне по найденному черепу произвела пластическую реконструкцию лица рейхсляйтера. На со-

хранившихся остатках зубов были обнаружены осколки ампулы. Несмотря на это, версия о том, что Борману удалось в свое время бежать из Берлина, сохранялась. И только в 1996 году директор института судебной медицины при Мюнхенском университете, профессор В. Айзенменгер в дополнение к ранее проведенным исследованиям произвел генетическую экспертизу, сопоставив ДНК костей трупа с кровью одной из племянниц Бормана. Таким образом, было окончательно установлено: как и другие главари Третьего рейха, партайгеноссе покончил с собой с помощью ампулы с ядом еще в 1945 году.

Токсикологическая экспертиза, сочетающаяся при необходимости с генетическими исследованиями, в современной криминалистике — мощное средство для разоблачения преступления. Сегодня генетические данные все больше используются органами правопорядка, особенно в западных странах. Так, в апреле 1998 г. в Общегерманском управлении уголовной полиции в Висбадене был заложен банк генетических данных. Чтобы выйти на генетический след преступника, экспертам необходимо лишь раздобыть хотя бы каплю его крови, слюны или спермы. Достаточно также иметь хотя бы один его волос или кусочек ногтя, т. е. любой биологический материал, который с помощью самой современной техники может быть «разложен» на гены. А «внешний облик» любого гена столь же неповторим, как отпечаток пальца.

Из приведенных выше примеров и фактов читатель, надеюсь, убедился в том, сколь важное значение имеет в криминалистике токсикология с ее разнообразием биологических, аналитических, физических и других методов исследования.

Завершая этот очерк, напомним, что в изданной ранее «Книге о ядах и отравлениях. Очерки токсикологии» нами изложены факты, версии, домыслы, касающиеся обнаружения токсичных веществ в организме и отравлений известных исторических личностей — монархов, ученых, людей искусства. Среди них Карл II Стюарт, Наполеон, Линкольн, Паскаль, Фарадей, Ньютон, Моцарт, Бетховен, Распутин. Какими токсикантами они отравлены и достоверны ли факты, известные из истории, — об этом ведутся дискуссии и по сей день. Окончательный вердикт — за исследователями-токсикологами, судебными медиками, историками медицины.

**И. М. Трахтенберг**

*Материал поступил в редакцию 16.05.07.*



## СЪЕЗДЫ, КОНФЕРЕНЦИИ, СОВЕЩАНИЯ

### КОНФЕРЕНЦИЯ «СОГЛАСОВАННАЯ НА ГЛОБАЛЬНОМ УРОВНЕ СИСТЕМА КЛАССИФИКАЦИИ И МАРКИРОВКИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ (СГС). ОБРАЩЕНИЕ И МАРКИРОВКА, 2008 г.» 20–21 ноября 2007 г. – Франкфурт-на-Майне, Германия

Конференция, организованная Международным центром по качеству и продуктивности, была посвящена проблемам внедрения СГС в странах Европы, США, Канаде, Японии, России. В организации и проведении конференции приняли участие Экономическая комиссия ООН по Европе (UNECE), Институт ООН по обучению и исследованиям (UNITAR), Общество по информированию о химической опасности США, Институт по охране труда и здоровью Германии, Федеральный институт по исследованию и тестированию материалов Германии, фирмы 3М, Сибя, Мерк, Дюпон и другие.

Представителем UNITAR было сделано сообщение об обучающих программах и помощи в создании законодательной базы и структур для внедрения СГС в развивающихся странах. Большая работа этим институтом была проделана в 2003 г. в Южно-Африканской Республике, 2004 г. – в странах Латинской Америки, 2005–2007 гг. – в странах Азии, 2006 г. – в арабских странах. В 2008 г. планируется активная деятельность по внедрению элементов СГС в странах Западной Африки.

Роза Гарсия Коуто (UNECE) в своем докладе провела сравнительный анализ классификации и маркировки химической продукции на основе СГС и действующей транспортной классификации и маркировки опасных продуктов. Она отметила ряд сложностей, связанных с различием в количестве классов опасности двух систем и видом символов опасности.

Представитель США А.Брокхаус рассказала о деятельности четырех агентств страны: Администрации по безопасности труда и здоровью (OSHA), Агентства по охране окружающей среды (EPA), Департамента транспорта (DOT), Комиссии по безопасному использованию продукции (CPSC) по внедрению СГС. В настоящее время ведется работа с руководством «Белого дома» о целесообразности внедрения в США

СГС. Просчитывается экономическая целесообразность введения элементов СГС.

В докладе о внедрении СГС в Японии отмечалось, что, как и в других странах, в ней имеются свои национальные классификации по оценке опасности химической продукции, существенно отличающиеся от СГС, отсутствует законодательная база для внедрения СГС.

Представители Европейской Комиссии в своих выступлениях отмечали, что в связи с вступлением в силу европейской системы регулирования обращения химической продукции REACH, основанной на СГС, государства – члены ЕС активно внедряют ее в своих странах. Вместе с тем, были отмечены некоторые различия между СГС ООН и СГС ЕС в оценке репродуктивной токсичности, канцерогенности, раздражающего эффекта, в критериях для классификации физической опасности.

Российскую Федерацию представлял ФГУЗ Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Роспотребнадзора. По просьбе организаторов конференции был проведен сравнительный анализ национальных классификаций химической продукции по пожаровзрывоопасности, по воздействию на здоровье человека и водную биоту с соответствующими классификациями СГС. В докладе представителя России отмечалось, что внедрение СГС в стране потребует радикальных изменений в законодательной базе, в существующей системе идентификации и оценки опасности химических веществ.

Обмен мнениями между участниками конференции позволил отметить, что наиболее эффективно СГС внедряется в странах ЕС. Нормативно-правовые базы других стран требуют существенных изменений в целях внедрения СГС.

Х.Х.Хамидулина



## РЕЦЕНЗИИ

УДК 615.9(075.8)

***Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов. Учеб. пособие для вузов /Под ред. проф. Н.И.Калетиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1016 с. 2000 экз.***

Фундаментальное издание, подготовленное коллективом из 23 авторов, рекомендовано Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов медицинских и фармацевтических вузов. Пособие содержит 11 глав, 272 таблицы и 423 рисунка, часть из которых выполнена в цвете.

В главе 1 рассмотрена система государственного контроля, организационно-правовое обеспечение в сфере обращения средств медицинского применения, вопросы клинико-токсикологического анализа и судебно-химической экспертизы. В последующих главах приведены классификация токсичных агентов, виды и биомаркеры токсического действия (глава 2), некоторые аспекты молекулярной токсикологии: от генома к метаболиту (глава 3). В книге обсуждается молекулярные мишени – рецепторные комплексы, рецепторы, формирующие ионные каналы, связанные с G-протеинами, с тирозинкиназной активностью, и механизмы токсического действия, межклеточной коммуникации, регуляции апоптоза, а также взаимосвязь между токсичностью и экспрессией генов, генным полиморфизмом и индивидуальной переносимостью лекарственных препаратов, между геномикой и протеомикой. В главе 4 излагаются основы метаболизма ксенобиотиков как органической, так и неорганической природы в организме человека: приведены общие закономерности резорбции в кровь, особенности распределения, биотрансформации и выведения токсикантов, показана роль Р-гликопротеина. Даны общие принципы математического моделирования поведения токсикантов в организме человека и приведены конкретные примеры использования математических моделей на практике. Глава 5 посвящена методологии химико-токсикологического анализа, особенностям интерпретации его результатов, а также обеспечению качества анализа, надлежащей лабораторной практике (принципам GLP в совре-

менной лаборатории), внедрению системы валидации и квалификации в лаборатории. Глава 6 отражает современное состояние аналитических исследований токсикантов в биообъектах. Большое внимание уделено современным методам определения токсикантов в биосредах человека. Рассмотрены особенности иммуноферментных, хроматографических, спектральных, ядерных и электрохимических методов анализа.

Вопросы метаболизма и методы определения отдельных групп токсикантов рассмотрены в главе 7. Наибольшее внимание уделено исследованию в биосубстратах человека наркотических средств, психотропных и сильнодействующих веществ, контролируемых законом на территории Российской Федерации. Рассмотрены вопросы определения опиатов, каннабиноидов, фенилалкиламинов, кокаина, галлюциногенов, барбитуратов, антидепрессантов, нейролептических средств. Приведены нейробиологические основы лекарственной и наркотической зависимости (боль и опиатные рецепторы; серотонин и депрессия; никотиновая зависимость и др.)

Серьезной социальной и юридической проблемой является экспертиза алкогольного опьянения, современные методы анализа которого приведены в главе 8 (раздел 8.1.).

Диагностика отравлений органическими растворителями, углеводородами и их галогенопроизводными, спиртами, альдегидами, кетонами и ядовитыми газами рассматривается в разделах 8.2. и 8.3.

Классификация пестицидов, их физико-химические свойства, метаболизм, токсичность и методы определения приведены в разделе 8.4.

Раздел 8.5., посвящен рассмотрению основных факторов токсичности металлов, их биологическим мишеням и понятию «метало-лигандный гомеостаз», химико-токсикологическим характеристикам многих токсичных и эссенциальных элементов.

В пособие включены вопросы аналитической диагностики профессионально и экологически обусловленных заболеваний, вызванных действием металлов и металлосодержащих соединений.

С современных позиций рассмотрены вопросы определения кислот, оснований, анионов солей и фтора в биологических материалах.

Впервые в пособии по токсикологической химии рассмотрены вопросы определения и обнару-

жения допинговых средств в биоматериалах, особенности и правила допинг-контроля (глава 9).

В настоящее время подавляющее большинство экспертов наименее контролируемой и наиболее опасной угрозой человечеству считают биоагрессию, биотерроризм и экологические войны. Возможности определения экотоксикантов в биосредах человека обсуждаются в 10 главе.

В последней 11 главе приведены источники природных токсинов, классификация, их токсические и фармакологические эффекты, а также методы определения, что имеет особое значение в случае биологической опасности или биотерроризма.

В пособии приведены также примеры ситуационных задач и тестовых вопросов.

Список рекомендуемой литературы содержит 111 источников отечественных и иностранных авторов.

К пособию приложен компакт-диск, в котором представлены нормативные документы, информационные материалы, экспертные методики, примеры из экспертной практики ряда профильных лабораторий Москвы, некоторые электронные ресурсы, материалы по истории становления судебной химии в России.

Пособие может быть использовано не только студентами вузов, но и слушателями факультетов последипломного медицинского и фармацевтического образования, специализирующимися в области судебно-химической экспертизы, клинико-токсикологического анализа, допинг- и наркоконтроля, профпатологии, токсикологической экологии, клинической фармакологии.

За последние 30 лет это первое отечественное столь фундаментальное пособие по химико-токсикологическому анализу.

К достоинствам книги следует отнести то, что авторы не ограничились изложением вопросов метаболизма и методов определения токсикантов в биосредах, но и описали те разделы токсикологии, без которых невозможно корректно выбрать исследуемый биоматериал и интерпретировать результаты химико-токсикологического анализа.

В книге убедительно показано, что экспертная служба уникальна и защищает интересы национальной безопасности, что химико-токсикологический анализ незаменим при решении многих вопросов правосудия, диагностики и лечения больных с острыми отравлениями, профессиональными или экологически обусловленными заболеваниями, оздоровления условий труда, гигиенического нормирования вредных веществ в объектах окружающей среды, а также

при проведении допинг-контроля, эколого-эпидемио-логических исследований, экспертизы на алкогольное или наркотическое опьянение.

Пособие адресовано студентам вузов, обучающимся по специальностям «Фармация», но приведенный обширный фактический материал и рассматриваемые теоретические проблемы безусловно представляют интерес для аспирантов, слушателей факультетов послевузовского медицинского, фармацевтического и химического образования, специализирующихся в области экспертизы наркотических и лекарственных средств, допинг-контроля, аналитической диагностики токсикантов, общей патологии, профпатологии, токсикологической экологии и других смежных специальностей.

Книга демонстрирует междисциплинарный подход к решению задач определения токсикантов в биообъектах, так как написана известными в своей области специалистами – химиками, биологами, медиками.

Вполне естественно, что при подготовке столь многопланового труда возможны отдельные неточности. Так, например, на с.46 приведено не корректное определение ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны и не верно дана расшифровка аббревиатуры ОБУВ, с ошибками процитирована отечественная классификация опасности веществ (с.55). К сожалению, авторы руководства не уделили внимания «Согласованной на глобальном уровне системе классификации и маркировки химических веществ (СГС)», которая рекомендована ООН для использования на международном уровне. Было бы целесообразно ознакомить с СГС читателей, поскольку гармонизация отечественных классификаций с международными подходами является важной составляющей в деле вхождения Российской Федерации в мировое сообщество.

Могут быть приведены и др. примеры несоответствий, которые однако не умаляют достоинств и положительной оценки рецензируемого учебного пособия.

Следует отметить, что этими же авторами выпущен оригинальный сборник ситуационных многоуровневых задач «Токсикологическая химия. Ситуационные задачи и упражнения» /под ред. проф. Н.И.Калетиной. – М., ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 352 с., который вместе с рецензируемой книгой составляет единый комплекс учебных пособий по токсикологической химии.

**Профессор, член-корр.РАМН**

**Б.А.Курляндский**

**Доктор мед.наук**

**К.К.Сидоров**



## НАС СПРАШИВАЮТ

**В аннотациях к продающимся тонизирующим энергетическим напиткам производитель не рекомендует употреблять в день более 2–3 банок. На чем основана эта рекомендация, какие опасности подстерегают пользователей таких напитков? Можно отравиться?**

Действие имеющихся в продаже энергетических напитков основано на стимулирующем эффекте хорошо знакомого нам всем по кофе и чаю кофеину, даже если в аннотации указано, что в состав напитка входят, например, экзотическая мексиканская гуарана, витамины и глюкоза. Однако в отличие от чая, где кофеин связан с танином и тем самым его действие ослаблено, в энергетических напитках кофеин находится в чистом виде.

Психостимулирующий эффект кофеина в значительной мере зависит от дозы и типа нервной системы человека. Если в малых дозах преобладает стимулирующий эффект, то при применении больших доз — угнетающий. По чувствительности к кофеину люди делятся на сильно-, средне- и маловосприимчивых. Надо иметь в виду, что практически все «энергетики» для ускорения действия (вспомните эффект шампанского) газированы в той или иной степени.

По санитарно-гигиеническим требованиям в «энергетиках» допускается содержание кофеина до 400 мг/л.

Простой расчет показывает, что в одноразовой металлической банке емкостью 0,33 л содержание кофеина составит около 130 мг, хотя некоторые марки напитков, например, «100 КВТ» содержат по данным экспертов журнала «За рулем», около 150 мг кофеина в одной упаковке. Для большинства «энергетиков» содержание ко-

феина, как правило, не превышает 80–100 мг на упаковку.

Лечебной дозой кофеина (а кофеин лекарственное средство) для взрослых считается 50–100 мг на прием 2–3 раза в день, но не более 1 г в сутки.

Передозировка (>300 мг/сутки) может привести к состоянию тревоги, беспокойству, тремору, головной боли, спутанному сознанию, сердечной экстрасистолии.

Чтобы избежать перечисленных выше осложнений, не рекомендуется выпивать более 2-х банок «энергетиков» в день, и тем более подряд. На упаковках отдельных марок напитков есть такое предупреждение. Иначе вместо стимуляции можете получить обратный эффект.

В повседневной жизни не следует превышать суточную дозу кофеина, поступающего в организм с «энергетиком». С осторожностью надо принимать такие напитки людям, труд которых связан с повышенной ответственностью, особым вниманием, выносливостью и работоспособностью.

Противопоказаны энергетические напитки людям с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, гипертоникам, лицам, страдающим повышенной возбудимостью, глаукомой, нарушениями сна. Противопоказаны эти напитки пожилым людям и детям. Будьте внимательны!

**К.К.Сидоров**





# БЮЛЛЕТЕНЬ

## Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

### НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 547.435.1

К.К.Сидоров

ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ»  
Роспотребнадзора, Москва

#### АЛИФАТИЧЕСКИЕ АМИНОСПИРТЫ

Аминоспирты – соединения с широким диапазоном применения. Они являются промежуточными продуктами при выработке эмульгаторов, детергентов и растворителей, входят в состав косметических средств, лекарственных препаратов, дегазирующих растворов, соединений для обработки текстильных изделий и кожи, используются в качестве регенерируемых абсорбентов кислых газов, употребляются как ингибиторы коррозии и т. д.

Алифатические аминоспирты представляют собой амины жирного ряда с заменой одного или нескольких атомов водорода в радикале на этанольную группу. В табл. 1, составленной на основании данных литературы [1, 3, 5, 6, 9, 10],

приведены величины среднесмертельных доз некоторых алифатических аминов и их этанольных производных. Как следует из табл. 1, включение спиртовых группировок в состав аминов снижает токсичность соответствующих аминоалкоголей как при расчете  $DL_{50}$  в весовых, так и в молярных единицах измерений. Сравнительная токсичность в ряду этаноламинов при введении в их состав различных заместителей может быть представлена в следующем виде: бутил > этил > метил.

При увеличении числа этанольных групп токсичность в ряду аминоспиртов в условиях острых опытов убывает. В табл. 2 приведены величины смертельных доз моно-, ди- и триэтаноламина для животных разных видов [2, 4]. Как видно из представленных в табл. 2 данных, токсичность аминоспиртов уменьшается от моно- к триэтанолмину. Аналогичная зависимость установлена [7, 8] при интоксикации крыс моноизопропаноламином ( $DL_{50}$  4260 мг/кг) и триизопропаноламином ( $DL_{50}$  6500 мг/кг).

Таблица 1

Сравнительная токсичность некоторых аминов и аминоспиртов при однократном введении в желудок крыс

Амин, формула, № CAS	$DL_{50}$		Аминоспирт, формула, № CAS	$DL_{50}$	
	мг/кг	мМ/кг		мг/кг	мМ/кг
Бутиламин $CH_3(CH_2)_3CH_2NH_2$ 103-73-9	500	6,84	Бутиламиноэтанол $CH_3(CH_2)_3NHCH_2CH_2OH$ 111-75-1	1150	9,82
Диэтиламин $(CH_3CH_2)_2NH$ 109-89-7	540	7,39	Диэтиламиноэтанол $(CH_3CH_2)_2NCH_2CH_2OH$ 100-37-8	1300	11,11
Этиламин $CH_3CH_2NH_2$ 75-04-7	580	12,88	Этиламиноэтанол $CH_3CH_2NHCH_2CH_2OH$ 110-73-6	1480	16,62
Диметиламин $(CH_3)_2NH$ 124-40-3	698	15,51	Диметиламиноэтанол $(CH_3)_2NCH_2CH_2OH$ 108-01-0	2340	26,39
Этилендиамин $NH_2CH_2CH_2NH_2$ 107-15-3	1160	19,33	Этилендиаминоэтанол $NH_2CH_2CH_2NHCH_2CH_2OH$ 111-41-1	3600	34,71

Таблица 2

**Среднесмертельные дозы моно-, ди- и триэтаноламина  
для некоторых видов лабораторных животных при введении в желудок**

Аминоспирт, формула, № CAS	Крысы		Мыши		Кролики		Морские свинки	
	мг/кг	мМ/кг	мг/кг	мМ/кг	мг/кг	мМ/кг	мг/кг	мМ/кг
Моноэтаноламин (CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH)NH <sub>2</sub> 141-43-5	2050	33,60	1475	24,18	1000	16,39	620	10,16
Диэтаноламин (CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH) <sub>2</sub> NH 111-42-2	3460	32,90	3300	31,38	2200	20,92	2200	20,92
Триэтаноламин (CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> N 102-71-6	8400	56,30	7750	51,94	5160	34,58	5300	35,52

Таблица 3

**Гигиенические нормативы моно-, ди- и триэтаноламина для воздуха и воды**

Аминоспирт	ПДК <sub>р.з.</sub> , мг/м <sup>3</sup>	ПДК <sub>атм. в.</sub> , мг/м <sup>3</sup>	ПДК <sub>в.</sub> , мг/л
Моноэтаноламин	0,5	0,02	0,5
Диэтаноламин	5	0,05*	0,8
Триэтаноламин	5*	0,04*	1

Примечание: \* – ОБУВ

Увеличение количества спиртовых групп в составе этаноламинов ослабляет их действие также и при многократном поступлении в организм, о чем свидетельствует практика установления гигиенических нормативов этих соединений в воздухе рабочей зоны (ГН 2.2.5.1313-03), атмосфере населенных мест (ГН 2.1.6.1338-03) и воде водоемов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования (ГН 2.1.5.1315-03) (табл. 3).

Приведенные зависимости между химической структурой и биологическим действием в ряду аминоспиртов могут быть использованы при направленном синтезе и последующей токсикологической характеристике новых дериватов этаноламинов.

**Список литературы**

1. Джанашивили Г.Д. // Гигиена и санитария, 1967. – № 6. – С. 12-18.
2. Дьячков В.И. // Там же, 1964. – № 11. – С. 25-31.
3. Габрилевская Л.Н., Ласкина В.П. // В кн: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. – М., 1965. – Вып. 7. – С. 99-112.
4. Сидоров К.К. // В кн: Материалы 22 Московской городской научно-практической конференции по промышленной гигиене. – М., 1966. – С. 89-90.
5. Сидоров К.К., Горбань Г.М., Тихонова Г.П. // Космическая биология и медицина, 1968. – № 4. – С. 44-49.
6. Smyth H.F., Carpenter C.P. // J. Ind. Hyg. Toxicol., 1944. – V. 26. – № 8. – P. 269-273.

7. Smyth H.F., Carpenter C.P. // Там же, 1948. – V. 30. – № 1. – P. 63-68.

8. Smyth H.F., Carpenter C.P., Weil C.S. // Там же, 1949. – V. 31. – № 1. – P. 60-62.

9. Smyth H.F., Carpenter C.P., Weil C.S. // Arch. Ind. Hyg. Occup. Med., 1951. – V. 4. – № 2. – P. 119-122.

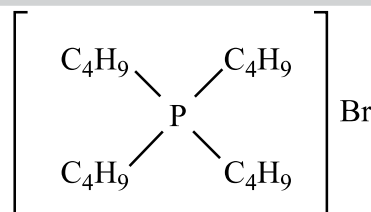
10. Smyth H.F., Carpenter C.P., Weil C.S. et al. // Там же, 1954. – V. 10. – № 1. – P. 61-68.

Материал поступил в редакцию 20.11.07.

**УДК 547.223**

**А.И.Халепо, И.П.Уланова, Е.А.Карпухина,  
С.В.Каютина, Т.А.Ткачева, Е.М.Малинина**  
ГУ НИИ медицины труда РАМН, Москва

**ТЕТРАБУТИЛФОСФОНИЙ БРОМИД**



CAS № 3115-68-2. М.м. 338,87. Тетрабутилфосфоний бромид (ТБФБ) [(C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)<sub>4</sub>P]Br – четвертичная соль фосфония, относится к классу органических алифатических соединений фосфора. Твердое вещество белого цвета, насыпная плотность – 460 кг/м<sup>3</sup> (при 20°C), t<sub>пл.</sub> 95–101°C, температура воспламенения 270°C, температу-

ра разложения 400°C, хорошо растворимо в воде, рН 0,5% водного раствора = 3 (при 20°C). Используется в качестве катализатора при получении эпоксидных смол.

DL<sub>50</sub> при введении в желудок мышам-самкам составляет 300 (231÷390) мг/кг, что характеризует вещество как умеренно опасное (III класс по классификации ГОСТ 12.1.007-76). Клиническая картина интоксикации характеризуется резким возбуждением, судорогами конечностей, боковым положением. Гибель наступает в течение нескольких минут или на 1–2 сутки после введения вещества в зависимости от величины вводимой дозы. ТБФБ обладает слабыми кумулятивными свойствами  $C_{cum} > 6,8$  (по методу R.K.Lim et al.).

ТБФБ проникает через неповрежденные кожные покровы, вызывая клинические проявления интоксикации (чрезмерное возбуждение, агрессивность, резкая реакция на внешние раздражители), обладает выраженным местным раздражающим действием на кожу кроликов (яркая эритема, мацерация и отек кожи, в дальнейшем — образование трещин и сухих корок), резко выраженным действием на конъюнктиву и роговицу глаза кролика (серозно-гнойный кератоконъюнктивит, стойкое помутнение роговицы с последующим образованием бельма и рубцовыми изменениями век). Результаты исследования не выявили аллергенных свойств ТБФБ при постановке реакции гиперчувствительности замедленного типа с полным адьювантом Фрейнда на мышах.

Пороговая концентрация для крыс при однократной 4-часовой ингаляционной заправке (Lim<sub>ac</sub>) установлена на уровне 23,8±4,16 мг/м<sup>3</sup> по действию на ЦНС (снижение суммационно порогового показателя) и раздражающему эффекту (брадипное, уменьшение клеточности в смывах с верхних дыхательных путей). Изучение мутагенного действия ТБФБ методом ана-телофазного анализа клеток костного мозга крыс не выявило достоверного увеличения частоты хромосомных aberrаций, слипаний и отставаний на уровне 23,8±4,16 мг/м<sup>3</sup>.

Воздействие ТБФБ на уровне 83,6±5,4 мг/м<sup>3</sup> приводило к изменению показателей, характеризующих функции нервной системы (увеличение латентного периода и уменьшение числа выглядываний в тесте ТКСО, снижение СПП), почек (олигурия, протениурия, креатининурия) и дыхательной систем, а также ферментемии (АЛТ, АСТ). Показатели состава периферической крови, теста «открытое поле», уровни общего белка, мочевины и хлоридов в сыворотке, коэффициенты массы печени, почек и селезенки не изменялись.

Концентрация 8,8±0,4 мг/м<sup>3</sup> при однократной 4-часовой ингаляции оказалась недействующей. Концентрации ТБФБ в камере определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

На основании полученных экспериментальных данных и по аналогии с нормированными в воздухе рабочей зоны близкими по химической структуре и характеру биологического действия соединениями, а также исходя из расчетов безопасного уровня по параметрам токсикометрии, в качестве ПДК тетрабутилфосфоний бромид в воздухе рабочей зоны обоснована и утверждена в установленном порядке величина 0,3 мг/м<sup>3</sup>, аэрозоль, II класс опасности, с пометкой «требуется специальная защита кожи и глаз» (дополнение № 1 ГН 2.2.5.1827-03 к гигиеническим нормативам «Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны» ГН 2.2.5.1313-03). На основании полученных материалов обоснована и утверждена величина ОБУВ тетрабутилфосфоний бромид в атмосферном воздухе населенных мест — 0,01 мг/м<sup>3</sup> (дополнение № 1 ГН 2.1.6.1764-03 к гигиеническим нормативам «Ориентировочные безопасные уровни воздействия загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест» ГН 2.1.6.1339-03).

*Материал поступил в редакцию 21.01.08.*

#### УДК 547.216

Л.А.Тепикина<sup>1</sup>, М.В.Бидёвкина<sup>2</sup>,  
Н.Г.Иванов<sup>2</sup>, Е.Б.Гугля<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина РАМН

<sup>2</sup>ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет» Росздрава, Москва

**2,3,3,4,4,5-ГЕКСАМЕТИЛГЕКСАНТИОЛ-2**  
(трет-додекантиол, лаурилмеркаптан, трет-ДДМ,  
трет-додецилтиол, трет-додецилмеркаптан)

C<sub>12</sub>H<sub>26</sub>S. CAS № 25103-58-6. М. м. 202,41. Жидкость с неприятным запахом сероводорода. T<sub>кип.</sub> 200–259°C. T<sub>пл.</sub> -8°C. Плотность: 0,84–0,85 г/см<sup>3</sup>.

Растворимость в воде 200–400 мг/л при 20°C. Реакционная способность: окисляется, галогенизируется; взаимодействует с карбоновыми кислотами, нитрилами, альдегидами; образует соли с металлами.

Меркаптаны (тиоспирты, тиолы) широко применяются в химической промышленности (при эмульсионной полимеризации каучуков, органическом синтезе и др.).

Характерной особенностью меркаптанов, определяющей их опасность для человека, является резкий неприятный запах. Даже в минимальных концентрациях меркаптаны способны вызывать рефлекторно тошноту и головную боль вследствие отвратительности запаха. В высоких концентрациях меркаптаны оказывают раздражающее действие и влияют на центральную нервную систему. Меркаптаны обладают кожно-резорбтивным действием и, в ряде случаев, сенсибилизирующим эффектом [1-4].

трет-ДДМ обладает всеми характерными для меркаптанов вредными эффектами.

DL<sub>50</sub> трет-ДДМ при внутрибрюшинном введении крысам составляет 1833–3000 мг/кг. CL<sub>50</sub> для мышей при 8-часовой экспозиции находится на уровне 30000–50000 мг/м<sup>3</sup> [5]. Ингаляция вещества в концентрации 20–40 мг/м<sup>3</sup> в течение 7-ми месяцев не вызвала развитие хронической интоксикации у подопытных животных [6]. Порог ощущения запаха третичного додецилмеркаптана составляет 0,1–0,5 мг/м<sup>3</sup>. Вдыхание вещества в концентрации 5 мг/м<sup>3</sup> приводило к изменениям плетизмограммы верхних конечностей. Повторное вдыхание вещества в концентрации 10 мг/м<sup>3</sup> (экспозиция 5 мин) нарушало умственную деятельность испытуемых [7].

трет-ДДМ обладает выраженным раздражающим действием: нанесение вещества на кожу морских свинок и мышей приводило к развитию дерматита, сопровождающегося облысением, атрофией и склерозированием кожи на участке аппликации [8].

ПДК трет-додецилмеркаптана в воздухе рабочей зоны составляет 5 мг/м<sup>3</sup>. Важно подчеркнуть, что при установлении ПДК меркаптанов в воздухе рабочей зоны не учитывалось их влияние на обонятельный анализатор человека.

Порог раздражающего действия для человека был установлен на уровне 0,121±0,021 мг/м<sup>3</sup> на основании субъективных ощущений испытуемых (чувство жжения в носу, неприятные ощущения в полости рта, последствие др.) при предъявлении трет-ДДМ в различных концентрациях 10-ти волонтерам.

Изучение в эксперименте зависимости вероятности обнаружения запаха трет-ДДМ от его концентраций проводили по общепринятой методике [9] с привлечением 10-ти здоровых людей-волонтеров обоего пола (5 женщин и 5 мужчин) в возрасте 38–60 лет, которые заранее были ознакомлены с запахом вещества. Регистрацию обонятельного ощущения проводили на основании субъективного суждения волонтеров о наличии или отсутствии запаха по принципу

«да-нет». В эксперименте испытано 5 различных концентраций вещества (от 0,0232 до 0,0041 мг/м<sup>3</sup>).

Зависимость «lg концентрации – вероятность ощущения запаха (процент положительных ответов)» аппроксимируется на пробитной сетке прямой с углом наклона 43°, что позволило отнести изучаемое вещество в отношении опасности развития ольфакторных реакций к 4-му классу. Вероятностный порог ощущения запаха трет-ДДМ, соответствующий 16% его обнаружения (SE<sub>16</sub>), был равен 0,015 мг/м<sup>3</sup>, коэффициент запаса 2,1, значение неощутимой концентрации с учетом соответствующего коэффициента запаса – 0,007 мг/м<sup>3</sup>. Максимальная разовая ПДК трет-додецилмеркаптана утверждена в установленном порядке на уровне 0,005 мг/м<sup>3</sup>, лимитирующий показатель вредности – рефлекторное действие (ГН 2.1.6.1765-03 дополнение 1 к ГН 2.1.6.1338-03).

#### Список литературы

1. Пинигин М.А., Сафиулин А.А. // В кн.: *Транспорт, хранение и переработка меркаптаносодержащих нефтей и газоконденсатов*. – Казань 1993. – С. 53-64.
2. Максимов Г.Г., Уждавини Э.Р. // Там же. – С. 65-86.
3. Бандман А.Л. В кн.: *Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов V-VIII групп. Справочник*. – Л., 1989. – С. 192-202
4. Селюжицкий Г.В. *Основные вопросы охраны внешней среды при производстве сульфатной целлюлозы. Автореф. дисс. докт. мед. наук*. – Л., 1972. – 347 с.
5. Гижларян М.С. // В сб.: *Материалы научной конференции, посвященной вопросам гигиены труда, промышленной токсикологии и профпатологии в нефтяной и нефтехимической промышленности*. – Баку, 1966. – С. 149-150.
6. Гумеров Н.Х. // В сб.: *Актуальные вопросы гигиены труда, промышленной токсикологии и профпатологии в нефтяной и нефтехимической промышленности*. – Уфа, 1964. – С. 34-36.
7. Шугаев Б.Б. // В кн.: *Токсикология сероорганических соединений*. – Уфа, 1964. – С. 52-56.
8. Мирзоян И.М., Жакенова Р.К. // В сб.: *Вопросы гигиены труда и профзаболеваний. Материалы научной конференции*. – Караганда, 1972. – С. 247-249.
9. *Временные методические указания по обоснованию ПДК загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест*. – М.: МЗ СССР, 1989. № 4681-88.

Материал поступил в редакцию 18.02.08.

УДК 615.281.011.8

Л.А.Тепикина, З.И.Жолдакова, О.О.Синицына,  
А.И.Мельникова, З.В.Шипулина, Р.В.Бару  
ГУНИИ экологии человека и гигиены окружающей  
среды им. А.Н.Сысина РАМН, Москва

**1-ЦИКЛОПРОПИЛ-6-ФТОР-1,4-ДИГИДРО-  
4-ОКСО-7-(4-ЭТИЛ-1-ПИПЕРАЗИНИЛ)-3-  
ХИНОЛИНКАРБОНОВАЯ КИСЛОТА  
(энрофлоксацин, Баймек, Байтрил)**

$C_{19}H_{22}FN_3O_3$ . CAS № 93106-60-0. М.м. 359,4. Желтый кристаллический порошок без запаха. Температура плавления: +222–226°C. Плотность: 270 кг/м<sup>3</sup>. Растворимость в воде: 0,13 г/л при +20°C. В атмосферном воздухе при 20 и 35°C – аэрозоль, в воде – взвесь. Химический класс – производные хинолона.

Используется как действующее вещество антибактериальных лекарственных препаратов для домашних и сельскохозяйственных животных [1, 2, 3].

Энрофлоксацин по химической структуре наиболее близок к ципрофлоксацину и отличается только наличием этильной группы в пиперазинильном ядре. В организме энрофлоксацин метаболизирует с образованием ципрофлоксацина, в действующем веществе – энрофлоксацине также допускается содержание до 1% ципрофлоксацина.

По механизму действия фторхинолоны относятся к группе ингибиторов ферментной ДНК-гидразы, проникая в центральный участок метаболизма бактерий, лишают бактерии возможности размножаться и способствуют их разрушению. Мало связываются с белками плазмы организма, хорошо проникают в органы и ткани, проходят через гематоэнцефалический барьер. Период полувыведения из организма около 4-х ч, около 40% выделяется из организма в неизменном виде в течение 24 ч [4].

В настоящее время накоплен достаточно обширный материал о характере биологического действия фторхинолонов. В экспериментальных исследованиях по гигиеническому нормированию пefлоксацина и ципрофлоксацина было показано, что общетоксическое их действие было выражено незначительно. Лимитирующим критерием их вредного действия был антимикробный эффект.

Биологическое действие энрофлоксацина изучено в острых, подострых и хронических опытах. При однократном внутрижелудочном введении DL<sub>50</sub> (мыши и крысы – самцы и самки) установлена на уровне 5000 мг/кг, кролики – 500–800 мг/кг массы. Клиническая картина отравления: снижение двигательной активности, боковое положение, затруднение дыхания, судороги и смерть. Среднесмертельной концен-

трации (CL<sub>50</sub>) достичь не удалось, концентрация 2930,0 мг/м<sup>3</sup> (мыши 4 ч) не оказывала общетоксического действия [1–4].

Обоснование ОБУВ энрофлоксацина в атмосферном воздухе проводили в соответствии с [5, 6] по DL<sub>50</sub> и Lim<sub>ac</sub>; по общетоксическому действию величины ОБУВ находились в интервале 0,03–0,01 мг/м<sup>3</sup>.

Однако, учитывая, что лимитирующим показателем вредности энрофлоксацина, как и других фторхинолонов, является антимикробное действие, был поставлен эксперимент по определению порога острого антимикробного действия (Lim<sub>ac</sub>) при ингаляционном поступлении препарата в организм в соответствии с [7]. Критериями антимикробного действия являлись показатели количественного состава микрофлоры толстой кишки белых крыс. Испытаны концентрации энрофлоксацина на уровне 9,2±0,7 и 0,8±0,3 мг/м<sup>3</sup>.

Однократное ингаляционное воздействие препарата в концентрации на уровне 9,2 мг/м<sup>3</sup> приводило к изменению количественного состава микрофлоры кишечника белых крыс. Через 24 ч после воздействия у животных отмечено снижение количества кишечных палочек, энтеробактерий и стафилококков. После недельного восстановительного периода количественные различия в составе микрофлоры кишечника опытных и контрольных животных практически полностью отсутствовали.

Воздействие энрофлоксацина в концентрации на уровне 0,8 мг/м<sup>3</sup> не вызывало каких-либо изменений в составе микрофлоры кишечника, т. е. не оказывало повреждающего действия на нормальную микрофлору.

Таким образом, изменения в составе микрофлоры кишечника животных, подвергавшихся воздействию энрофлоксацина в концентрации на уровне 9,2 мг/м<sup>3</sup>, можно квалифицировать как умеренно выраженный дисбиоз, а данную концентрацию – принять за порог острого антимикробного действия (Lim<sub>ac am</sub>).

Расчет ОБУВ энрофлоксацина по порогу острого антимикробного действия позволил рекомендовать величину, равную 0,008 мг/м<sup>3</sup>. Норматив утверждён Роспотребнадзором (ГН 2.1.6.2309-07).

Исследования по обоснованию ОДУ энрофлоксацина в воде проводили в соответствии с [8]. Изучение влияния антибиотика на органолептические свойства воды включало определение запаха и привкуса воды, способности образовывать пену, пленку, придавать воде окраску, мутность. Пороговая концентрация вещества по влиянию на запах воды составила 250 мг/л, по способности повышать мутность – 50 мг/л, образовывать пену – 15 мг/л.

Изучение влияния энрофлоксацина на об-

ший санитарный режим водоемов проводили по биохимическому потреблению кислорода в 6-суточном эксперименте (БПК) в 6-ти концентрациях (от 0,25 до 0,0025 мг/л). Первые 5 концентраций вызвали торможение процессов БПК различной степени выраженности (40–20% по сравнению с контролем – разведенной прудовой водой), концентрация 0,01 мг/л была пороговой, а – 0,0025 мг/л не оказывала существенного влияния на процессы БПК.

Энрофлоксацин в концентрации 0,05 мг/л обладал бактерицидным действием на сапрофитную микрофлору к 9-м суткам, а в концентрации 0,01 мг/л бактерицидный эффект проявлялся к 30-м суткам.

Концентрация 0,0025 мг/л принята за подпороговую по влиянию на общий санитарный режим водоемов, лимитирующий признак вредности – влияние на сапрофитную микрофлору.

Для обоснованию МНД по санитарно-токсикологическому признаку вредности проведен 2-х месячный субхронический эксперимент, в котором исследовали влияние энрофлоксацина на микробиоценоз кишечника. Это обусловлено спецификой его биологического действия.

В опыте использованы белые крысы массой 190–200 г. Водные растворы энрофлоксацина в дозах 0,4, 0,04 и 0,004 мг/кг вводили в объеме 1 мл/100 г массы животных 5 дней в неделю. Контрольные животные ежедневно получали в том же объеме водопроводную воду, обследование животных осуществляли через 2 недели, 1 и 2 месяца введения.

В процессе эксперимента изучали количественное содержание в фекалиях кишечных палочек, других условно-патогенных грамотрицательных бактерий, энтеробактерий, стафилококков, стрептококков, лактобацилл, клостридий, общего количества аэробных и анаэробных бактерий.

Бактериологическое исследование испражнений крыс через 2 недели воздействия препарата выявило изменение в микробиоценозе толстой кишки крыс, получавших энрофлоксацин в дозах 0,4 и 0,04 мг/кг ( $p < 0,05–0,01$ ). Прежде всего обращает на себя внимание частичная элиминация из кишечного содержимого кишечных палочек и энтеробактерий, подчиняющаяся закономерности «доза-эффект» – большая доза вызывает более значительное снижение изученных показателей. Кроме того, достоверно снизилось общее количество аэробных бактерий. Через месяц после воздействия антибиотика выявлено достоверное изменение тех же показателей. Число кишечных палочек у животных, получавших максимальную дозу вещества, снизилось еще более существенно по сравнению с предыдущим сроком наблюдения и по сравнению с контролем, а у

животных, получавших среднюю дозу, – достоверное снижение этого показателя сохранилось. Количество других условно патогенных энтеробактерий также претерпело дальнейшее снижение. Сохранилось достоверное снижение аэробных бактерий. Ко второму месяцу эксперимента наблюдался некоторый рост кишечной флоры и восстановление количества изученных микроорганизмов кишечника животных. Так, количество кишечных палочек и энтеробактерий оставалось достоверно сниженным только у животных I группы, у животных, получавших антибиотик в дозе 0,04 мг/кг, количество этих бактерий восстановилось до нормальных величин. Общее количество аэробных бактерий, снижавшееся в предыдущие сроки обследования, ко второму месяцу эксперимента восстановилось.

Таким образом, в субхроническом эксперименте на лабораторных животных установлено антимикробное действие энрофлоксацина в дозах 0,4 и 0,04 мг/кг. Учитывая, что для определения антимикробного действия антибиотиков считается достаточным двухмесячный эксперимент, нет необходимости во введении дополнительного коэффициента запаса для прогноза параметров хронического действия. Максимальная недействующая доза составила 0,004 мг/кг, концентрация – 0,08 мг/л.

Сопоставление безвредных концентраций по органолептическому, общесанитарному и токсикологическому признаку вредности позволило рекомендовать ОДУ энрофлоксацина на уровне 0,0025 мг/л, 3 класс опасности, лимитирующий признак вредности – общесанитарный.

#### Список литературы

1. *Evaluation of certain veterinary drug residues, in food //ortythird report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. – Geneva, WHO, 1995. – 24 p.*
2. **Голиков А.В., Скворцов В.Н.** // *Ветеринария*, 1993. – № 8. – С. 32.
3. **Голиков А.В., Скворцов В.Н., Семенова Н.В.** // *Там же*, 1994. – № 4. – С. 29–30.
4. *Enrofloxacin. Sicherheitsdatenblatt 056980/07 (Гарантийный лист) BAYER Gesundheit, marz 1996, s.2.*
5. *Методические указания по установлению ОБУВ загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. – М.: МЗ СССР, 1982. – 20 с.*
6. *Гигиеническое нормирование лекарственных средств в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и воде водных объектов. МУ 1.1.726–98. – М.: МЗ РФ, 1999. – 70 с.*
7. *Методические рекомендации «Постановка исследований для обоснования ПДК антибиотиков в воздухе рабочей зоны». – М., 1989.*
8. *Методические указания «Обоснование гигиенических нормативов в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового во-*

допользования». МУ 2.1.5.720-98. — М.: МЗ РФ, 1999. — 55 с.

Материал поступил в редакцию 18.02.08.

УДК [615.322:582.784.6]014.2.099

А.А.Волкова, С.А.Кулешова,  
О.А.Андреева, М.Н.Ивашев  
ГОУ ВПО «Пятигорская ГФА» Росздрава

### ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ ОДНО- И ДВУЛЕТНИХ ПОБЕГОВ ВИШНИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Сухие экстракты одно- и двулетних побегов вишни обыкновенной — порошкообразные сыпучие вещества, полученные путем экстракции сырья 40 и 70% этиловым спиртом с последующим высушиванием.

Известно, что побеги вишни обыкновенной содержат флавоноиды, органические кислоты, дубильные вещества, соединения стероидной структуры, аминокислоты, сахара, макро- и микроэлементы.

Определение токсичности сухих экстрактов побегов вишни обыкновенной проводили по методу Кёрбера на белых половозрелых неинбредных мышах массой 25–30 г, прошедших карантин в течение 14 суток. Содержание животных осуществляли согласно правилам, принятыми фармакологическим государственным комитетом («Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» под ред. В.П.Фисенко, 2000).

Животные были разделены на группы по 6 мышей в каждой. Водные суспензии сухих экстрактов вишни обыкновенной вводили перорально однократно в дозе от 4500 до 5050 мг/кг. Общая продолжительность наблюдений за животными после введения исследуемых экстрак-

тов составила 14 дней. В первый день после введения мыши находились под непрерывным наблюдением. За весь период наблюдения гибели животных не зарегистрировано.

Оценку общего состояния животных при введении экстрактов побегов вишни проводили с учётом изменения поведенческих реакций, нервно-мышечной возбудимости и некоторых вегетативных функций. Токсические эффекты регистрировали в течение 3-х часов при введении больших доз экстрактов для представления общей картины передозировки.

При введении больших доз обоих экстрактов вишни у животных наблюдали повышенную активность в виде агрессивности, а также изменение аппетита, выявленного по увеличению потребления корма и питья, при умеренном увеличении мочеиспускания и дефекации. Двигательная активность значительно увеличилась, реакции на световые и звуковые, а также на тактильные и болевые раздражители были мало выражены. Общее состояние изменилось незначительно. Большие дозы экстрактов оказывали также умеренное негативное влияние и на дыхательную функцию животных, т. е. наблюдалась тенденция к уменьшению глубины и увеличению частоты дыхательных движений, в отличие от мышей контрольной группы.

Таким образом, анализ результатов изучения острой токсичности сухих экстрактов побегов вишни обыкновенной при однократном введении в желудок беспородным мышам в дозе 5050 мг/кг не выявил признаков выраженной интоксикации и гибели животных, что позволяет отнести оба экстракта к 4-му классу опасности — малоопасные вещества, согласно классификации ГОСТ 12.1.007-76.

Материал поступил в редакцию 08.10.07.

## НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Гигиена труда: Учебник для вузов / Под ред. Н.Ф.Измерова, В.Ф.Кириллова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 584 с. 2000 экз.

Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., Багаев В.А. Экспериментальная хирургия лабораторных животных: Учеб. пособие для вузов. — СПб.: Лань, 2007. — 255 с. 1000 экз.

Общая врачебная практика: Неотложная медицинская помощь: Учеб. пособие / Под ред. С.С.Вялова, С.А.Чорбинской. — М.: МЕДпресс-информ, 2007. — 112 с. 2000 экз.

Сидоров П.И., Совершаева С.Л., Скребцова Системный мониторинг ракетно-космической деятельности / Под общ. ред. П.И.Сидорова. — М.: МЕДпресс-информ, 2007. — 224 с. 1000 экз.

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology

of Chemicals (ECETOC). Joint Assessment of Commodity Chemicals (JACC) Report № 53: Cyanides of Hydrogen, Sodium and Potassium, and Acetone Cyanohydrin (CAS № 74-90-8, 143-33-9, 151-50-8 and 75-86-5), Volumes I and II. 2007. <http://www.ecetoc.org>.

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). Technical Report № 101: Guidance for setting occupational exposure limits: emphasis on data-poor substances. 2007. <http://www.ecetoc.org>.

World Health Organization. WHO/IPCS Guidelines for the Public Health Management of Chemical Incidents (Draft). 2007. <http://www.who.int/ipcs>.

К.К.Сидоров, А.А.Виноградова

**НОВЫЕ ГИГИЕНИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ**

В соответствии с Федеральным законом от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (Собрание законодательства Российской Федерации, 1999, № 14, ст. 1650; 2002, № 1 (ч. 1), ст. 1; 2003, № 2, ст. 167; № 27 (ч. 1), ст. 2700; 2004, № 35, ст. 3607; 2005, № 19, ст. 1752; 2006, № 1, ст. 10; № 52 (ч. 1), ст. 5498; 2007, № 1 (ч. 1), ст. 21, ст. 29; № 27, ст. 3213; № 46, ст. 5554; № 49, ст. 6070) и постановлением Правительства Российской Федерации от 24.07.2000 № 554 «Об утверждении Положения о государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации и Положения о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2000, № 31, ст. 3295, 2005, № 39, ст. 3953 Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г. Г. Онищенко постановлениями № 89, 90 и 92 от 19.12.07 утвердил и ввел в действие с 01.03.08:

**I. Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.2308-07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».** Указанные гигиенические нормативы зарегистрированы в Минюсте России, регистрационный номер 10920 от 21.01.08.

*С момента введения в действие ГН 2.2.5.2308-07 утратили силу:*

1. ГН 2.2.5.1314-03 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».
2. ГН 2.2.5.1828-03 «Дополнение № 1 к ГН 2.2.5.1314-03».
3. ГН 2.2.5.2101-06 «Дополнение № 2 к ГН 2.2.5.1314-03».
4. ГН 2.2.5.2240-07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

**II. Гигиенические нормативы ГН 2.1.6.2309-07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест».** Указанные гигиенические нормативы зарегистрированы в Минюсте России, регистрационный номер 10966 от 21.01.08.

*С момента введения в действие ГН 2.1.6.2309-07 утратили силу:*

1. ГН 2.1.6.1339-03 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест».
2. ГН 2.1.6.1764-03 «Дополнение № 1 к ГН 2.1.6.1339-03».
3. ГН 2.1.6.1984-05 «Дополнение № 2 к ГН 2.1.6.1339-03».
4. ГН 2.1.6.1986-06 «Дополнение № 3 к ГН 2.1.6.1339-03».

**III. Гигиенические нормативы ГН 2.1.5.2307-07 «Ориентировочные допустимые уровни (ОДУ) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования».** Указанные гигиенические нормативы зарегистрированы в Минюсте России, регистрационный номер 10923 от 21.01.08.

*С момента введения в действие ГН 2.1.5.2307-07 утратили силу:*

1. ГН 2.1.5.1316-03 «Ориентировочные допустимые уровни (ОДУ) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования».
2. ГН 2.1.5.1831-04 «Дополнение № 1 к ГН 2.1.5.1316-03».

**Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.2308-07, ГН 2.1.6.2309-07 и ГН 2.1.5.2307-07 действуют впредь до отмены либо принятия новых гигиенических нормативов взамен существующих.**



Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г. Г. Онищенко постановлением № 1 от 14.01.08 утвердил и ввел в действие с 01.04.08 Гигиенические нормативы ГН 2.1.5.2312-08 – «Дополнение № 1 к гигиеническим нормативам «Ориентировочные допустимые уровни (ОДУ) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. ГН 2.1.5.2307-07».

**ОРИЕНТИРОВОЧНЫЕ ДОПУСТИМЫЕ УРОВНИ (ОДУ) ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ  
В ВОДЕ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПИТЬЕВОГО И  
КУЛЬТУРНО-БЫТОВОГО ВОДОПОЛЬЗОВАНИЯ**  
Дополнение № 1 к ГН 2.1.5.2307-07  
Гигиенические нормативы  
ГН 2.1.5.2312-08\*

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ОДУ, мг/л	Лимитирующий признак вредности	Класс опасности
1	Бензиловый эфир п-нитрофенола	1145-76-2	$C_{13}H_{11}NO_3$	0,25	общ.	3
2	5-Бензилокситриптамин	20776-45-8	$C_{17}H_{18}NO_3$	0,16	с.-т.	2
3	5-Бензилокситриптамина гидрохлорид	52055-23-9	$C_{17}H_{18}N_2O \cdot HCl = C_{17}H_{19}N_2O$	0,4	с.-т.	2
4	5-Бензилокситриптамин-2-карбоновая кислота	54987-14-3	$C_{18}H_{18}N_2O_3$	3,0	общ.	3
5	3-(п-Бензилокси)фенилгидразон пиперидона-2,3	101783-07-7	$C_{18}H_{19}N_3O_2$	2,0	общ.	3
6	3-Карбэтоксипиперидион-2	3731-16-6	$C_6H_{22}N_2O_5$	0,1	орг. привк.	3
7	1-Кето-6-бензилокси-1,2,3,4-тетрагидро-β-карболин	51086-22-7	$C_6H_{18}N_2O_2$	3,0	общ.	3
8	5-Окситриптамин адипинат	50-67-9 153-98-0 6031-83-7	$C_6H_{13}N_2O_5 = C_6H_{13}N_2O$ $C_6H_{13}NO_3 \cdot C_6H_{10}O_4$	0,08	с.-т.	2
9	Полиоксидоний		$(C_6H_{12}N_2O \cdot C_8H_{15}N_2O_2Br)_n$	0,04	с.-т.	2
10	Силилхромат		$C_{36}H_{30}CrO_4Si_2$	0,1	общ.	3
11	N-Фталил-5-бензилокситриптамин	53157-45-2	$C_{25}H_{20}N_2O_3$	1,0	общ.	3
12	Хлоргидрат бензинового эфира п-аминофенола	51388-20-6	$C_{13}H_{14}NOCl$	0,1	с.-т.	2
13	β-Цианоэтилмалонат	17216-62-5	$C_{10}H_{15}NO_4$	0,8	с.-т.	2

**Примечания:**

Названия индивидуальных веществ в алфавитном порядке приведены, где это было возможно, в соответствии с правилами Международного союза теоретической и прикладной химии, ИЮПАК (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) /графа 2/ и обеспечены регистрационными номерами Chemical Abstracts Service (CAS) /графа 3/ для облегчения идентификации веществ.

В графе 4 приведены формулы веществ. Величины нормативов приведены в мг вещества на 1 л воды (мг/л). Указан лимитирующий показатель вредности /графа 6/, по которому установлены нормативы:

с.-т. – санитарно-токсикологический;

общ. – общесанитарный;

орг. – органолептический с расшифровкой характера изменения органолептических свойств воды (привк. – придает воде привкус).

Вещества разделены на четыре класса опасности /графа 7/:

1 класс – чрезвычайно опасные

2 класс – высокоопасные

3 класс – опасные

4 класс – умеренно опасные.

\* – зарегистрированы в Министерстве юстиции Российской Федерации, регистрационный номер 11104 от 05.02.08.

Для удобства пользования нормативами приведен указатель наиболее распространенных технических, торговых и фирменных названий веществ и их синонимов.

**Указатель основных синонимов, технических, торговых и фирменных названий веществ  
и их порядковые номера в таблице**

Синонимы, технические, торговые и фирменные названия веществ	Порядковый номер в таблице
3-(2-Аминоэтил)-1Н-индол-5-ол гександиоат	8
3-(2-Аминоэтил)-5-оксииндол адипинат	8
3-(2-Аминоэтил)-5-бензилгидроксихлорид	2
Бензил-4-нитрофениловый эфир	1
4-Бензиоксианилин гидрохлорид	12
Диэтиловый эфир β-цианоэтилмалоновой кислоты	13
3-Карбэтокси-2-пиперидон	6
1-Нитро-4-(фенилметокси)бензол	1
2,3,4,9-Тетрагидро-6-(фенилметокси)-1Н-пиридо[3,4-b]индол-1-он	7
Трифенилсиланолхромат (VI)	10
Бис(трифенилсилил) эфир хромовой кислоты	10
4-(Фенилметокси)бензоламин гидрохлорид	12
5-(Фенилметокси)-1Н-индол-2-карбоновая кислота	4
5-(Фенилметокси)-1Н-индол-3-этиламин	2
5-(Фенилметокси)-1Н-индол-3-этиламин моногидрохлорид	3
2-[2-[5-(Фенилметокси)-1Н-индол-3-ил]этил]-1Н-изоиндол-1,3(2Н)-дион	11
3-[[4-(Фенилметокси)фенил]гидразон]пиперидин-2,3-дион	5
β-Цианоэтилмалонат (β-ЦЭМ)	13
Этил-2-оксо-3-пиперидинкарбоксилат	6

## ИНФОРМАЦИЯ

**ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора извещает о том, что в марта-апреле 2008 г. закончился срок действия государственной регистрации следующих веществ**

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ	Дата окончания срока госрегистрации
1	Алюминий хлорид гидроксид [AlCl(OH)] <sub>n</sub>	1327-41-9	Алюминий хлорид основной; алюминий оксихлорид; алюминий хлорид гидрат; алюминий гидрохлорид; полиалюминий хлорид, поли(алюминийгидрокси)хлорид	77.99.27.15.У. 3860.4.05 АТ 002703	16.03.2008
2	2,4-Бис(1,1-диметилэтил)фенол C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	96-76-4	2,4-Ди(трет-бутил)-1-гидроксibenзол; 2,4-ди(диметилэтил)фенол, 2,4-ди-трет-бутилфенол	77.99.26.15.У. 4408.4.05 ВТ 002704	22.03.2008
3	2,6-Бис(1,1-диметилэтил)фенол C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	128-39-2	1-Гидрокси-2,6-ди(1,1-диметилэтил)бензол, 2,6-ди-трет-бутилфенол, Агидол-0	77.99.27.15.У. 4409.4.05 ВТ 002707	28.03.2008
4	1,4-Бутандиовая кислота C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	110-15-6	Сукциновая кислота, этан-1,2-дикарбоновая кислота, янтарная кислота	ВТ 002211	01.04.2008
5	2-Бутоксигэтанолуацетат C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	112-07-2	Бутиленцеллозульвацетат, монобутиловый эфир этиленгликоля ацетата, 2-бутоксигэтилацетат, бутилгликольацетат	77.99.27.8.У. 7056.6.05 ВТ 001531	15.03.2008

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ	Дата окончания срока госрегистрации
6	2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-Гексадекафторнонан-1-ол $C_9H_4F_{16}O$	376-18-1	1,1,9-Тригидроперфторнонанол, 1,1,9-тригидрогексадекафторнониловый спирт, гексадекафторнониловый спирт, спирт-теломер $n_4$	77.99.27.008.У. <u>010337.09.05</u> ВТ 002223	10.04.2008
7	[2-(Гидрокси-кО)-5-нитро-3-[[2-(оксо-кО)-1-[(фениламино)карбонил]пропил]азо-кN'] бензолсульфонат(3-) ] хрома тригидрат $C_{16}H_{11}CrN_4O_8S \cdot 3H_2O$		Краситель органический спирторастворимый желтый 3	77.99.26.8.У. <u>4931.5.05</u> ВТ 002710	12.04.2008
8	Дибензоилпероксид $C_{14}H_{10}O_4$	94-36-0	Бензоил перекись, бензоил пероксид, бензопероксид, бензоил перекись техническая	77.99.27.8.У. <u>6086.6.05</u> ВТ 002210	27.03.2008
9	4-[(Диметиламино)метил]-2,6-бис(1,1-диметилэтил)фенол $C_{17}H_{29}NO$	88-27-7	N,N-Диметил(3,5-ди-трет-бутил-4-оксифениламин); 2,6-бис(1,1-диметилэтил)-1-гидрокси-4-[(диметиламино)метил]бензол, 2,6-ди-трет-бутил-4-диметиламинометилфенол; Агидол-3	77.99.26.15.У. <u>4406.4.05</u> ВТ 002708	28.03.2008
10	2,6-Дихлор-4-нитробензол-амин $C_6H_4Cl_2N_2O_2$	99-30-9	1-Амино-2,6-дихлор-4-нитробензол; 4-нитро-2,6-дихлоранилин, 2,6-дихлор-4-нитроанилин	77.99.26.15.У. <u>2565.3.05</u> ВТ 002701	10.03.2008
11	Диэтилкарбонат $C_3H_{10}O_3$	105-58-8	Диэтиловый эфир карбоновой кислоты; диатол; этоксимуравьиной кислоты ангидрид; ДЭК эуфин; диэтиловый эфир угольной кислоты; диэтиленкарбонат	77.99.26.8.У. <u>4953.5.05</u> ВТ 002728	26.04.2008
12	Диэтилэтилфенилпропандионат $C_{15}H_{20}O_4$	76-67-5	Диэтил-2-этил-2-фенилмалонат, этилфенилдиэтилмалонат; диэтилэтилфенилмалонат; диэтиловый эфир фенилэтилмалоновой кислоты, фенилэтилдиэтилмалонат	77.99.26.8.У. <u>4954.5.05</u> ВТ 002729	27.04.2008
13	2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-Додекафторгептан-1-ол $C_7H_4F_{12}O$	335-99-9	$\alpha, \alpha, \omega$ -Тригидроперфторгептанол; 1,1,7-тригидрододекафторгептанол-1; 1,1,7-тригидрододекафторгептиловый спирт, додекафторгептиловый спирт, спирт-теломер $n_3$	77.99.27.008.У. <u>010336.09.05</u> ВТ 002718	24.04.2008
14	Иттрий тантал оксид (1:1:4) $O_4TaY$	12143-49-6	Иттрий ортотанталат	77.99.27.8.У. <u>4939.5.05</u> АТ 002706	25.03.2008
15	Кальций метасиликат $CaO_3Si$	1344-95-2	Кальций силикат, кальций гидросиликат, кальциевая соль метакремниевой кислоты, кальций моносиликат, кальций метасиликат; входит в состав продукта CYREZ 963 LF Resin Powder Concentrate	77.99.26.8.У. <u>9101.8.05</u> АТ 002721	26.04.2008
16	[[[(3-Метил-5-(оксо-кО)-1-фенил-1Н-пиразол-4-ил)азо-кN']-2-(гидрокси-кО)-5-нитробензолсульфонат(3-)] хрома гексагидрат $C_{16}H_{10}CrN_3O_7S \cdot 6H_2O$		Краситель органический спирторастворимый оранжевый 2Ж	77.99.26.8.У. <u>4932.5.05</u> ВТ 002711	12.04.2008
17	4-Метилтетрагидро-1,3-изобензофурандион $C_9H_{10}O_3$	79313-15-8	Смесь 3-метилтетрагидрофталевого ангидридов, изометилтетрагидрофталевого ангидрида	77.99.27.15.У. <u>4407.4.05</u> ВТ 002705	22.03.2008

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации Номер РПОХБВ	Дата окончания срока государственной регистрации
18	1-Метоксипропил-2-ацетат $C_6H_{12}O_3$	108-65-6	1-Метоксипропиловый эфир уксусной кислоты, 1-метокси-2-ацетоксипропан, 1-метоксипропан-2-ол ацетат, 2-метокси-1-метилэтилацетат, Диспербик-161	77.99.27.8.У. 7057.6.05 ВТ 000880	15.03.2008
19	Поли(1,4-дигидроксибензол) гидрат $[C_6H_5O_2]_m \cdot H_2O$		Поли(гидрохинон)гидрат, Эпотек	77.99.26.8.У. 6089.6.05 ВТ 002715	18.04.2008
20	Полиметилениполифенилендиизоцианат $[C_{15}H_{10}N_2O_2]_n$	9016-87-9	Эфир изоциановой кислоты с полиметилениполифениленом; полимер дифенилметандиизоцианата, полиметилениполифенилполиизоцианат; входит в состав продукта Корундинат ПМ	77.99.27.15.У. 3137.3.05 ВТ 002702	10.03.2008
21	$\alpha$ -(1,1,3,3-Тетраметилбутил)-фенил- $\omega$ -гидроксиполи(окси-1,2-этандин)ил $C_{14}H_{22}O[C_2H_4O]_n$	9036-19-5	трет-Октилфеноксиполиэтоксигетанол; моно((1,1,3,3-тетраметилбутил)фенол) эфир с полиэтиленгликолем, этоксилированный трет-октилфенол; Тритон X-102; Тритон X-100; входит в состав продукта Part 1 to Two Part Reagent Kit	77.99.26.8.У. 8077.8.06 ВТ 002719	24.04.2008

Производство и применение перечисленных веществ возможно только после их перерегистрации.

**ПЕРЕЧЕНЬ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ,  
ПРОШЕДШИХ ГОСУДАРСТВЕННУЮ РЕГИСТРАЦИЮ  
(печатается с продолжением, сообщение № 80\*)**

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации Номер РПОХБВ	Дата регистрации	Срок действия регистрации
1	Полимер 4,4'-(1-метилэтилиден)бисфенола, хлорметилоксирана и тетра(дихлорфенил)гексафурфурокситетрасилоксана $[[C_{15}H_{16}O_2]_k[C_3H_5ClO]_m[C_{34}H_{42}Cl_8O_{18}Si_4]_n]_x$		Сополимер бисфенола А с эпихлоргидрином и тетра(дихлорфенил)гексафуран-2-метокситетрасилоксаном, смола Т-III	77.99.26.8.У. 1403.2.08 ВТ 003008	11.02.08	постоянно
2	2-(Тиоцианметилтио)-бензотиазол $C_9H_6N_2S_3$	21564-17-0	Тиоцианат(бензотиазол-2-тио)-метил, ТСМТВ; входит в состав продукта ВАСТІСІD ТМ-210 (БАКТИЦИД ТМ-210), (2-бензотиазолилтио)метилловый эфир тиоциановой кислоты, (2-бензотиазолилтио)метилтиоцианат	77.99.26.8.У. 736.2.08 ВТ 003005	23.01.08	временно до 23.01.11

\* Начало в № 4 за 1994 г.