



СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Марупов А.М., Стопницкий А.А., Шоабсаров А.А. Эфферентная и небулайзерная терапия в комплексном лечении больных с острыми отравлениями уксусной эссенцией тяжелой степени 2

Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Лим В.Г., Яфарова И.Х. Модуляция антитодами фосфорорганических соединений иммунных реакций и синтеза цитокинов, связанных с функцией Th1-, Th2-лимфоцитов..... 7

Иванов С.Д., Колбасов С.Е., Ямшанов В.А., Кованько Е.Г., Монахов А.С., Мелихова М.В., Иванова А.С., Вакуненко О.А., Стрельников К.Б. Экспресс-оценка токсигеномных эффектов несимметричного диметилгидразина 11

Макаров В.К., Рясенский Д.С. Оценка влияния употребления полигексаметиленгуанидин гидрохлорида на липидный состав сыворотки крови 18

Гутникова А.Р., Махмудов К.О., Саидханов Б.А., Таджихулова О.Д., Эргашев Н.А., Асрапов М.И., Косникова И.В. О мембранотропном действии солей тяжелых металлов и основных путях его коррекции 21

Соседова Л.М., Голубев С.С., Титов Е.А. Сравнительная оценка морфофункциональных изменений в нервной ткани и печени белых крыс при воздействии сулемы и паров металлической ртути..... 27

Обухова Л.М., Безруков М.Е. Оценка токсичности отходов методом клиновидной дегидратации 30

Сулейманов Р.А., Валеев Т.К. Экспериментальные данные по гигиеническому нормированию агидола-21 в атмосферном воздухе населенных мест..... 34

Жармухамедова Т.Ю., Хохлова О.Н., Гуськова Т.А., Мурашев А.Н. Обеспечение качества исследований безопасности химических веществ, биотехнологических и нанотехнологических продуктов в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики 38

Юбилейные даты

Борис Аронович Курляндский
(к 80-летию со дня рождения) 42

Михаил Николаевич Коршун
(к 70-летию со дня рождения) 43

Некролог

Корбакова Александра Ивановна 44

БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ 46

Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам 49

Перечень химических и биологических веществ, для которых в мае-июне 2009 г. закончился срок действия государственной регистрации 50

Перечень химических и биологических веществ, прошедших государственную регистрацию (сообщение № 85) 51

Marupov A.M., Stopnitskiy A.A., Shoabsarov A.A. Effluent and nebulayzer therapy in a complex treatment of patients with severe cases of acute poisoning by vinegar essence 2

Zabrodskii P.F., Kirichuk V.F., Lim V.G., Yafarova I.Kh. Modulation of organophosphorus compounds by antidotes in immune responses and synthesis of cytokins associated with functioning of TH1-, TH2-lymphocytes 7

Ivanov S.D., Kolbasov S.Ye., Yamshanov V.A., KovankoYe.G., Monakhov A.S., Melikhova M.V., Ivanova A.S., Vakunenko O.A., Strelnikov K.B. Express assessment of toxicogenomic effects posed by asymmetric dimethylhydrazine 11

Makarov V.K., Ryasenskiy D.S. Assessment of effects produced by taking in polymethyleneguanidine hydrochloride on lipid composition of blood serum 18

Gutnikova A.R., Makhmudov K.O., Saidkhanov B.A., Tadzhiikulova O.D., Ergashev N.A., Asrarov M.I., Kosnikova I.V. About membranotropic action of heavy metal salts and basic ways of its correction 21

Sosedova L.M., Golubev S.S., Titov Ye.A. Comparative evaluation of morphofunctional changes in white rats neural tissue and liver at exposure to mercury-dichloride (sulema) and metal mercury vapors 27

Obukhova L.M., Bezrukov M.Y. Assessment of wastes toxicity using the wedge-like dehydration method..... 30

Suleimanov R.A., Valeyev T.K. Experimental data on the hygienic regulation of Agidol-21 in the atmospheric air of residential settings..... 34

Zharmukhamedova T.Yu., Khokhlova O.N., Guskova T.A., Murashev A.N. Securing the quality of studies on safety of chemicals, biotechnological, nanotechnological products in compliance with the principles of Good Laboratory Practice (GLP)..... 38

Anniversaries

Kurliandskiy Boris Aronovich
His 80th anniversary 42

Korshun Mikhail Nikolayevich
His 70th anniversary 43

Obituary

Korbakova Alexandra Ivanovna 44

BULLETIN OF THE RUSSIAN REGISTER OF POTENTIALLY HAZARDOUS CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES

News on toxicity and hazard of chemical and biological substances 46

New publications on toxicology and related disciplines..... 49

List of chemical and biological substances for which the duration of state registration expires in May-June 2009..... 50

List of chemical and biological substances registered on the state level (list № 85) 51

УДК [615.917:547.292]-085.032

А.М. Марупов, А.А. Стопницкий, А.А. Шоабсаров

ЭФФЕРЕНТНАЯ И НЕБУЛАЙЗЕРНАЯ ТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ ОТРАВЛЕНИЯМИ УКСУСНОЙ ЭССЕНЦИЕЙ ТЯЖЕЛОЙ СТЕПЕНИ

*Республиканский центр экстренной медицинской помощи
Минздрава Республики Узбекистан, Ташкент*

Острые отравления уксусной эссенцией тяжелой степени осложняются развитием эндотоксикоза, который в сочетании с ожогом дыхательных путей приводит к развитию пневмоний, а также является главным фактором летальности. С целью быстрой элиминации токсических метаболитов, купирования дыхательной недостаточности в отделении токсикологии РНЦЭМП впервые в комплексную терапию острых отравлений уксусной эссенции тяжелой степени внедрена методика сочетанного применения плазмафереза и небулайзерной иммунотерапии.

Ключевые слова: плазмаферез, острые отравления, уксусная кислота, небулайзерная терапия.

Введение. Отравление уксусной кислотой является одним из наиболее распространенных видов бытовых отравлений в Узбекистане, что связано с широкой доступностью и постоянным использованием в домашнем хозяйстве. По данным специализированных токсикологических центров СНГ и отдела токсикологии РНЦЭМП в Узбекистане, отравления уксусной эссенцией составляли в среднем от 14 до 22 % среди всех госпитализированных больных с острыми экзогенными отравлениями за 2001–2007 гг. [1, 4, 10].

Повреждение тканей при контакте с кислотой обусловлено нарушением клеточных мембран в результате растворения липидов, составляющих их основную структурную единицу. Образование анионов кислотных остатков стимулирует перекисное окисление липидов мембран и усугубляет процесс разрушения клеток [5, 7, 8].

Таким образом, нельзя не отметить, что экзотоксическое воздействие уксусной эссенции уже на 1–2 сутки осложняется развитием синдрома эндогенной интоксикации, тяжесть которого пропорциональна тяжести отравления. Клинически это подтверждается нарастанием маркеров эндотоксикоза: резким повышением уровня в крови средних молекул (СМ), ростом лейкоцитарного индекса интоксикации и индекса сдвига нейтрофилов, повышением содержания малонового диальдегида и диеновых конъюгатов. Развитие эндотоксикоза значительно ухудшает состояние больных, является основной причиной развития у них полиорганной недостаточности [5, 10, 11].

Не менее опасным и грозным осложнением острых отравлений уксусной эссенцией являются бронхолегочные заболевания. По данным

специализированных токсикологических центров тяжелые отравления сопровождаются поражением дыхательных путей в 91 % случаев, в том числе бронхопневмонии наблюдаются у 73 % больных [1, 7]. В 1–2-е сутки после отравления значительную опасность представляет развитие аспирационно-обтурационной формы нарушения внешнего дыхания, которая проявляется симптомокомплексом асфиксии. При ожоге голосовых связок отмечаются осиплость, афония, длительное время беспокоящая больных. Часто имеет место раннее развитие гнойных трахеобронхитов, сопровождающихся образованием большого количества слизисто-гнойного, трудно отделяемого из-за болезненности секрета. Характерно возникновение бронхопневмоний, нередко приобретающих сливной характер [1, 5, 8]. Пневмонии на фоне ожоговой болезни химической этиологии протекают тяжело. Это связано с ожоговым истощением, наличием открытой раневой поверхности верхних отделов трахеобронхиального дерева, устойчивой к антибактериальной терапии микрофлоры. Нарастание эндогенной интоксикации также значительно усугубляет течение пневмоний, вплоть до развития респираторного дистресс-синдрома [1, 2].

Несмотря на достигнутые успехи традиционных методов лечения, острые отравления уксусной эссенцией тяжелой степени часто приводят к летальному исходу. К сожалению, не удается справиться с главным фактором летальности — эндотоксикозом, который является следствием развивающейся ожоговой болезни. Поэтому высокую актуальность имеют методы, позволяющие быстро удалить патологические концентрации эндотоксинов. К ним относится плазмаферез с заменой удаленной плазмы на

донорскую [3, 6, 9]. Механизм лечебного действия плазмафереза связан не только с механическим удалением токсических веществ, но и общей реакцией организма на эксфузию, восстановлением всех компонентов плазмы, нормализацией гормонально-ферментативной активности, развитием иммуностимулирующего эффекта. Таким образом, применение плазмафереза при отравлениях уксусной эссенцией позволит значительно повысить эффективность комплексной терапии. При этом нельзя забывать, что эфферентная терапия при данной патологии имеет свои особенности: проведение плазмафереза необходимо только после купирования гемолиза и выведения из экзотоксического шока, замену объема удаленной плазмы донорской необходимо проводить не в соотношении 1:1, а 1:1,3–1,5, так как наличие тяжелой ожоговой болезни, гепатопатии у данной категории пациентов ухудшает белковообразующую функцию организма и приводит к необходимости дополнительного введения белков [3, 9].

Кроме того, для повышения эффекта комплексной терапии бронхо-легочных осложнений у пациентов с тяжелыми отравлениями уксусной эссенцией, проводится ингаляционная небулайзерная терапия, через встроенные в контур дыхательного аппарата или подключенные к кислородной станции небулайзеры, которая позволяет осуществить местное фармакологическое воздействие на основные звенья патогенеза пневмонии – бронхообструкция, бронхообтурация, бактериальная инвазия, иммуносупрессия [1, 7, 9].

Таким образом, исходя из вышеизложенного можно поставить вопрос о сочетанном применении плазмафереза и небулайзерной терапии в комплексном лечении больных с острыми отравлениями уксусной эссенцией тяжелой степени.

Материалы и методы исследования. Обследование и лечение больных с острыми отравлениями уксусной кислотой проводили в отделении токсикологической реанимации и интенсивной терапии РНЦЭМП. В данное исследование включено 36 пациентов с отравлениями уксусной кислотой в возрасте от 17 до 54 лет и уровнем свободного гемоглобина в крови от 7,8 до 14,6 г/л.

Больные были разделены на 2 группы.

I-я группа – 16 больных, комплекс традиционных мероприятий лечения которых дополнялся сеансами плазмафереза и небулайзерным ведением лекарственных средств.

II-я группа – 20 больных, в процессе лечения которых проводили традиционную комплексную медикаментозную терапию.

Сопоставимость групп исследования обеспечивалась: 1) исключением из групп исследований пациентов, имеющих тяжелую соматическую патологию (хронические заболевания сердечно-сосудистой и дыхательной систем, патологию ЦНС), 2) отсутствием достоверных различий между группами по возрасту и тяжести состояния.

Всем больным выполняли физикальные методы исследования, изучали маркеры эндотоксикоза (СМ, ЛИИ, ИСН), исследование КОС и РаСО₂ (после снятия гемолиза), рентгенографию легких в динамике. Оценку показателей резервов дыхания (ДО, МОД) проводили при помощи спирографа CHEST-GRAPH HI-701. Степень ожога пищевода и желудка определяли путем эзофагогастроскопии на 1–2, 16–18, 27–30-е сутки после отравления. Для оценки степени гепатопатии и нефропатии определяли уровень общего белка, мочевины, креатинина, билирубина, АЛТ, АсТ в сыворотке крови (после купирования гемолиза). Исследования проводили на 1, 3, 7 и 11–12 сутки.

Результаты и обсуждение. Исходные показатели у всех обследованных больных свидетельствуют о серьезных изменениях уровня эндотоксикоза и системы гомеостаза, наступивших в результате отравления. Как видно из табл. 1, содержание СМ в крови уже на 3 сутки оказалось достоверно повышенным в 2,4 раза, а гематологические показатели эндотоксикоза (ЛИИ, ИСН) также значительно увеличивались – в 4,8 раза и 3,6 раза соответственно. Также у исследуемых больных отмечали развитие гепатопатии и нефропатии средней степени тяжести, что подтверждалось повышением АЛТ в 2,6 раза, АсТ в 2,1 раза, билирубина в 1,9, мочевины и креатинин повысились соответственно в 1,4 и 1,5 раза (табл. 2). У всех обследованных больных имелись серьезные изменения состояния КОС, газов крови наступивших в результате отравления. Характер фоновых изменений изучаемых параметров указывал на наличие у больных проявлений дыхательной недостаточности уже в момент поступления. Об этом свидетельствует снижение показателей дыхательного объема, МОД, РаО₂, увеличение показателей РаСО₂ появление температуры и цианоза кожных покровов, частого, поверхностного дыхания и тахикардии, а из лабораторных данных – лейкоцитоза с нейтрофильным сдвигом влево, увеличение СОЭ. Данные эзофагогастроскопии показывали наличие химического ожога пищевода, кардиального отдела и дна желудка с развитием катарально-фибринозного воспаления, появлением множественных кровотокающих эрозий.

Больным испытуемой группы проводили по 5 сеансов плазмафереза с предварительной нагрузкой коллоидными и солевыми растворами 800–1200 мл и плазмаэкстракцией 1000–1200 мл с замещением донорской плазмой в соотношении 1:1,4. Сеансы выполняли на аппарате Немофених с использованием плазмафилтратра ПФМ-01-ТТ фирмы «Роса» (Россия) на 3, 5, 7, 9, 11–12-е сутки. Не наблюдалось нарушений гемодинамики и посттрансфузионных осложнений. Всего было выполнено 80 сеансов.

Больным I-ой группы проводили небулайзерную терапию по методике Васильева с использованием небулайзера REF 8900 фирмы «SALTER LABS», подключенного к кислородной станции. При этом пациентам последовательно вводили: 1) гидрокортизон по 20 мг, 2) холинолитики – атропент 0,5 мг, 3) ИРС 19 – две стандартные дозы отдельно от других препаратов, 4) антисептики – гипохлорид 0,06 %, 5) антибиотики – согласно чувствительности микрофлоры. Ингаляции проводили по 2 мин каждые 6 ч в первые и вторые сутки, затем каждые 12 ч в течение 7-ми дней.

Влияние проводимого лечения на лабораторные показатели эндотоксикоза отражено в табл. 1

Как видно из табл. 1, уже после 1 сеанса плазмафереза наблюдали значительное снижение (на 50,4 %) уровня СМ в крови (фракция E_{254}), после 3-го сеанса, уровень СМ – почти приблизился к норме (до $0,24 \pm 0,01$), снизившись в 2,2 раза, а в дальнейшем к 11–12-м сут-

кам их содержание в крови не превышало допустимых величин. Надо отметить, что в контрольной группе при анализе динамики уровня СМ на 3-и сутки отмечали его подъем (в среднем с 0,54 до 0,58 ед. опт. пл., или на 4,3 %), а динамика снижения на 7-е сутки значительно отставала от испытуемой группы (в 2,2 и 2,3 раза соответственно), что свидетельствует об эффективности плазмафереза в отношении данных метаболитов.

Что касается гематологических показателей интоксикации, то на фоне применения плазмафереза наблюдается их устойчивое снижение: ЛИИ в 1,1–1,3–1,4 раза, а ИСН в 0,8–1,2–1,4 раза. В контрольной же группе динамика ЛИИ в течение 3 суток даже несколько увеличилась – на 3 %, а ИСН выражена в меньшей степени.

Детоксикационный эффект плазмафереза подтвержден динамикой показателей внутриклеточных ферментов печени (табл. 2) – снижением уровня АлТ в 2,6, АсТ в 2,5 раза, а также билирубина в 2,1 раза, мочевины в 2,3 и креатинина в 2,4 раза на 7-е сутки, что фактически привело к их нормализации. В контрольной же группе даже на 7-ой день сохраняется некоторое повышение уровня мочевины, АлТ и АсТ. Что касается содержания общего белка, то вливание донорской плазмы, на фоне сеансов плазмафереза позволило довести его уровень в среднем до $71,2 \pm 0,6$ г/л, что имеет благоприятное воздействие на пролиферативные процессы в организме.

Таблица 1

Влияние плазмафереза на динамику показателей эндотоксикоза при отравлениях уксусной эссенцией (n = 36)

Показатель, норма, I и II группы	До сеанса плазмафереза (на 3-и сутки)	Δ %	После 1-го сеанса плазмафереза	Δ %	После 3-го сеанса плазмафереза (на 7-е сутки)	Δ %	После 5-го сеанса плазмафереза (11–12-е сутки)	Δ %
СМ, ед. опт. пл. (I гр) $0,23 \pm 0,02$	$0,52 \pm 0,03^1$	+210	$0,26 \pm 0,02$	$\infty 50,4$	$0,24 \pm 0,01^1$	$\infty 78,9$	$0,21 \pm 0,01^1$	$\infty 102,5$
СМ, ед. опт. пл. (II гр) $0,23 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,03^1$	+214	$0,56 \pm 0,02$	+21,3	$0,46 \pm 0,01^1$	$\infty 26,9$	$0,35 \pm 0,01^1$	$\infty 32,6$
ЛИИ, ед. (I гр) $1,0 \pm 0,5$	$5,72 \pm 1,07^1$	+481	$5,06 \pm 1,07^1$	$\infty 11,5$	$2,9 \pm 0,93$	$\infty 51,8$	$1,6 \pm 1,01$	$\infty 104,5$
ЛИИ, ед. (II гр) $1,0 \pm 0,5$	$5,61 \pm 1,07^1$	+461	$5,72 \pm 1,07^1$	+3,03	$5,3 \pm 0,93$	$\infty 5,5$	$4,5 \pm 1,01$	$\infty 19,7$
ИСН, ед. (I гр) 0,06	$0,28 \pm 0,05^1$	+367	$0,25 \pm 0,05^1$	$\infty 8,7$	$0,23 \pm 0,11$	$\infty 17,8$	$0,16 \pm 0,05^1$	$\infty 58,8$
ИСН, ед. (II гр) 0,06	$0,31 \pm 0,05^1$	+367	$0,32 \pm 0,05^1$	$\infty 6,4$	$0,29 \pm 0,11$	$\infty 12,8$	$0,21 \pm 0,05^1$	$\infty 32,5$

Примечания: $\Delta\%$ – данные 1-й графы – по отношению к норме, в остальных графах – по отношению к исходным показателям; 0 – $0,05 < p < 0,1$, 1 – $p < 0,05$, 2 – $p < 0,01$

Таблица 2

Влияние мембранного плазмафереза на динамику биохимических показателей крови при отравлениях уксусной эссенцией (n = 36)

Показатель, норма в системе СИ I и II-я группы	До сеанса плазмафереза (на 3-и сутки)	Δ %	После 1-го сеанса плазмафереза (на 3-и сутки)	Δ %	После 3-го сеанса плазмафереза (на 7-е сутки)	Δ %
Общий белок, г/л, 65–80 г/л (I гр)	63,4±0,2 ¹	∞2,7	66,4±0,2	+5,1	71,2±0,6	+15,7
Общий белок, г/л, 65–80 г/л (II гр)	62,9±0,07 ¹	∞2,8	61,9±0,05	∞1,1	51,5±0,1	∞13,2
Мочевина, ммоль/л, 2,5–8,3±0,02 (I гр)	12,12±0,02 ¹	+146	8,26±0,02	∞26,0	8,27±0,01	∞35,5
Мочевина, ммоль/л, 2,5–8,3±0,02 (II гр)	12,16±0,02 ¹	+154	12,8±0,02	+5,6	9,55±0,01	∞21,2
Креатинин (I гр) 0,088–0,19	0,28±0,01 ¹	+147	0,21±0,01	∞14,1	0,16±0,01	∞38,1
Креатинин (II гр) 0,088–0,19	0,26±0,01 ¹	+142	0,25±0,01	∞0,5	0,19±0,01	∞26,9
АлТ у/л (I гр) 0–42	98,4±0,5 ¹	+67	31,2±0,5	∞61,6	28,1±0,5	∞69,2
АлТ у/л (II гр) 0–42	101,2±0,5 ¹	+67	126,6±0,5	+25,9	62,3±0,5	∞36,6
АсТ у/л (I гр) 0–37	79,0±0,5	+213	34,7±0,5	∞71,2	21,2±0,5	∞87,8
АсТ у/л (II гр) 0–37	76,6±0,5	+201	78,2±0,5	+2,08	59,7±0,5	∞22,0
Билирубин общий, ммоль/л, 8,55–20,5 (I гр)	39,1±0,1 ²	+190,7	16,0±0,1	∞59,0	14,4±10,0	∞68,2
Билирубин общий, ммоль/л, 8,55–20,5 (II гр)	38,8±0,1 ²	+185,2	29,2±0,1	∞20,4	20,9±10,0	+46,9

Примечания: Δ% – данные 1-й графы – по отношению к верхнему пределу нормы, в остальных графах – по отношению к исходным показателям; ¹ – p < 0,05, ² – p < 0,01

Положительное влияние мембранного плазмафереза на процесс регенерации ожоговой поверхности пищевода и желудка подтвержден проведением ЭГДФС, которая показывает значительное ускорение процессов пролиферации по сравнению с контрольной группой уже на 16–18-е сутки после поступления.

В ходе работы установлено, что своевременно начатая и грамотно проведенная небулайзерная терапия в сочетании с мембранным плазмаферезом позволяет значительно снизить тяжесть течения пневмоний у больных испытываемой группы (табл. 3).

Небулайзерная терапия оказала заметное положительное влияние на некоторые показате-

ли газообмена. Клинические и лабораторные исследования показали, что у больных основной группы уже на 1-е сутки наблюдалось значительное улучшение параметров дыхания, что подтверждалось восстановлением дыхательного объема и МОД, а на 3 сутки – нормализацией рН – 7,37, показателей РаСО₂ – 51,0±7,5 и РаО₂ – 80,0±6,8, а также стабилизацией показателей КОС – снижение АВ до 29,2±2,7, SB 24,0±0,9 и BE +3,2±0,3. Что касается пациентов контрольной группы, то у них еще к 3-м суткам сохранялись признаки дыхательной недостаточности, это проявлялось наличием клинических признаков, результатами лабораторных и рентгенологических исследований.

Таблица 3

Распределение отравленных по объему поражения легочной ткани

Характер инфильтрации	Основная группа (n = 16) абс., (%)	Основная группа (n = 20) абс., (%)
Очаговая пневмония	9 (56,25)	7 (35 %)
Полисегментарная	4 (25 %)	8 (40 %)
Субтотальная или РДСВ	1 (6,25 %)	4 (20 %)
Всего	14 (87,5 %)	19 (96 %)

В основной группе не отмечалось летальных исходов, а средний показатель койко-дней составил $20 \pm 1,4$ дней, в то время как у 2-х пострадавших контрольной группы течение заболевания осложнилось развитием позднего кровотечения, которое привело к гибели пациентов. Среднее пребывание в стационаре больных контрольной группы отмечалось в пределах $25 \pm 2,2$ дней, что в 1,3 раза превышает показатель основной группы.

Выводы. 1. При тяжелых отравлениях уксусной эссенцией возникают критические расстройства метаболизма, которые сопровождаются развитием синдрома эндогенной интоксикации.

2. Острые отравления уксусной эссенцией тяжелой степени приводят к развитию бронхо-легочных осложнений в 91 % случаев, которые усугубляют течение патологического процесса, являются одной из ведущих причин летальности данной категории пациентов.

3. При отравлении уксусной кислотой применение мембранного плазмафереза способствуют статистически достоверной коррекции эндотоксикоза, что положительно влияет на течение патологического процесса, уменьшает летальность, а также срок пребывания пациентов в стационаре.

4. Сочетанное применение мембранного плазмафереза и небулайзерной терапии позволяет уже на 3-и сутки добиться более быстрого восстановления вентиляционно-перфузионных отношений по показателям газового состава крови, функции внешнего дыхания, позволяет снизить частоту развития тяжелых полисегментарных пневмоний.

Список литературы

1. **Васильев А.В.** Применение небулайзерной терапии для профилактики и лечения пневмонии у больных с отравлением деструктивными ядами // Дис. канд. мед. наук. — М., 2004. — С. 19-25, 114-115.

2. **Волков С.В.** Эзофагогастроскопия в диагностике и комплексном лечении химических ожогов пищевода и желудка // Дис. д-ра мед. наук. — М., 1997. — С. 14-16, 22-24, 117-121.

3. **Воинов В.А.** Эфферентная терапия Мембранный плазмаферез. — СПб.: Эскулап, 1999. — С. 44.

4. **Воронцов С.В., Лейдерман Н.Н., Сенцов В.Г.** Выбор методов коррекции синдрома белковоэнергетической недостаточности у больных с отравлением уксусной эссенцией // Автореф. дис. канд. мед. наук. — Екатеринбург, 2005.

5. **Лужников Е.А.** Реанимация и интенсивная терапия при острых отравлениях // Руководство по клинической реаниматологии. Под ред. И.А.Дарбанян. — М.: Медицина, 1994. — С. 147-148.

6. **Лужников Е.А., Дагаев В.Н.** Особенности реанимационных мероприятий при острых экзогенных отравлениях // Основы реаниматологии. — М.: Медицина, 1985. — С. 117-124.

7. **Лужников Е.А., Костомарова Л.Г.** Острые отравления: Руководство. — М.: Медицина, 1989. — С. 238-244.

8. **Лужников Е.А.** Клиническая токсикология: учебник 3-е издание. — М.: Медицина, 1999. — С. 323-343.

9. **Лужников Е.А.** Современные принципы детоксикационной терапии острых отравлений // Анестезиология и реаниматология, 1998. — № 6. — С. 17-25.

10. **Марупов А.М., Шамсиев Р.Т., Хан Е.Н.** Лечение химических ожогов пищевода и желудка // П съезд гастроэнтерологов Узбекистана (Ташкент, 27 мая 2003 г.). — С. 86-88.

11. **Марупов А.М.** Эндотоксикоз при острых экзогенных отравлениях // Дис. д-ра мед. наук. — М., 2004. — С. 24-26, 117-122.

Материал поступил в редакцию 15.10.08.

А.М. Marupov, A.A. Stopnitskiy, A.A. Shoabsarov

EFFERENT AND NEBULAYZER THERAPY IN A COMPLEX TREATMENT OF PATIENTS WITH SEVERE CASES OF ACUTE POISONING BY VINEGAR ESSENCE

Republican Center for Emergency Medical Care, Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan

Severe acute poisonings by vinegar essence become complicated by the development of endotoxikosis which causes jointly with burns of respiratory tracks the development of pneumonia and serves as a major lethal factor. To promptly remove toxic metabolites and to cut off respiratory deficiency, the Toxicological Division of the Republican Center for Emergency Medical Care implemented a joint use of plasmapheresis and nebulayzer therapy for the first time in the complex therapy for the treatment of acute poisoning by vinegar essence.

УДК 612.112.94.017.1.014.46

П.Ф. Забродский², В.Ф. Киричук¹, В.Г. Лим¹, И.Х. Яфарова¹

МОДУЛЯЦИЯ АНТИДОТАМИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ И СИНТЕЗА ЦИТОКИНОВ, СВЯЗАННЫХ С ФУНКЦИЕЙ TH1-, TH2-ЛИМФОЦИТОВ

¹Саратовский государственный медицинский университет²Саратовский военный институт химической и биологической безопасности
Минобороны России

В экспериментах на крысах линии Wistar установлено, что при остром отравлении фосфорорганическими соединениями в дозе 1,0 DL₅₀ (веществом VX, метафосом) в продуктивной фазе иммуногенеза супрессия иммунных реакций и снижение концентрации в крови цитокинов (ИФН-γ, ИЛ-4) с уменьшением соотношения ИФН-γ/ИЛ-4 свидетельствует о том, что редукция функции Th1-лимфоцитов по сравнению с Th2-клетками более выражена. Атропина сульфат (однократно, 10 мг/кг) увеличивал снижение активности Th1- и Th2-лимфоцитов и синтеза ими цитокинов в равной степени, а карбоксим (однократно, 10 мг/кг) частично восстанавливал преимущественно активность Th1-клеток и синтез ИФН-γ.

Ключевые слова: фосфорорганические соединения, антидоты, иммунотоксичность, Th1, Th2-лимфоциты, цитокины.

Введение. Широкое использование фосфорорганических соединений (ФОС) в сельском хозяйстве и быту может приводить к загрязнению окружающей среды, вызывать острые, подострые и хронические интоксикации [2, 3, 15]. Отравления могут вызывать также ФОС и различные антихолинэстеразные соединения (обладающие практически такой же токсикодинамикой, как ФОС), используемые в медицине. Кроме того, в настоящее время химическое оружие (ХО) на основе фосфорорганических веществ – ФОВ (российского VX, зарина, зомана) уничтожаются согласно Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения ХО и его уничтожении [1, 2, 4]. При этом не исключена возможность возникновения аварийных ситуаций в процессе уничтожения ХО, в частности, ФОВ, которые могут приводить к заражению почвы, воздуха, воды, к поражению персонала химических объектов и населения прилегающих территорий. Существует вероятность использования ФОВ в террористических и криминальных целях [4, 12].

В настоящее время за рубежом активно ведутся разработки высокоэффективных антидотных средств при поражении ФОВ [8, 11, 13], анализируются их отдаленные эффекты [12].

Модуляция нарушений функции иммунной системы, в частности, синтеза Т-клетками цитокинов при отравлении ФОВ их антидотами не исследована. Известно, антидоты при поражении ФОВ могут как уменьшать, так и усиливать их иммунотоксические эффекты [2]. Существует

необходимость оценки комбинированного действия средств специфической терапии при поражении ФОВ на иммунные реакции и продукцию Th1- и Th2-лимфоцитами цитокинов с целью обоснования необходимости фармакологической коррекции постинтоксикационных нарушений иммунного гомеостаза [2].

Целью исследования являлась оценка острого действия ФОС в условиях применения антидотных средств (м-холиноблокатора атропина сульфата и реактиватора холинэстеразы карбоксима) на иммунные реакции, связанные с функцией Th1- и Th2-лимфоцитов, а также на синтез продуцируемых этими клетками цитокинов (соответственно ИФН-γ и ИЛ-4).

Материал и методы исследования. Опыты проводили на крысах линии Wistar обоего пола массой 180–240 г. ФОС (российский VX и метафос) применяли в дозе 1,0 DL₅₀ через 3-е сут после иммунизации крыс эритроцитами барана – ЭБ (2·10⁸ клеток), то есть в продуктивной фазе иммуногенеза. DL₅₀ VX и метафоса при подкожном введении составляли соответственно 0,018±0,004 и 25,3±2,6 мг/кг. Атропина сульфат (10 мг/кг), карбоксим (10 мг/кг) вводили однократно через 5–10 мин после введения ФОС. Показатели системы иммунитета оценивали общепринятыми методами в экспериментальной иммунотоксикологии [2, 5]. Функцию Th1-лимфоцитов оценивали по гуморальной иммунной реакции к тимусзависимому антигену (числу антителообразующих клеток к ЭБ в селезенке, синтезирующих IgM) через 5 сут по-

сле иммунизации ЭБ [5], а также по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Формирование ГЗТ, исследовали у животных по приросту (в %) массы стопы задней лапы. Разрешающую дозу ЭБ ($5 \cdot 10^8$) вводили под апоневроз стопы задней лапы на 4 сут. Реакцию ГЗТ определяли через 1 сут. Функцию Th2-лимфоцитов оценивали на 8 сут по числу АОК к ЭБ в селезенке методом непрямого локального гемолиза в геле, характеризующим синтез IgG [5, 14].

Концентрацию цитокинов ИФН- γ и ИЛ-4, которые синтезируют соответственно Th1- и Th2-лимфоцитов [6, 9], определяли в плазме крови крыс на 5 и 8 сут после первой инъекции ФОС методом ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA) [5], используя наборы (ELISA Kits) фирмы BioSource Int. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия достоверности Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Под влиянием VX и метафоса (табл. 1) происходило снижение гуморального иммунного ответа к T-зависимому антигену (по числу АОК к ЭБ в селезенке), характеризующему функцию Th1-лимфоцитов и синтез IgM, через 4 сут после иммунизации по сравнению с контрольным уровнем соответственно в 2,24 и 1,88 раза ($p < 0,05$). При отравлении VX и метафосом отмечали также существенную редукцию активности Th1-лимфоцитов, оцениваемую по реакции ГЗТ, соответственно в 1,78 и 1,54 раза ($p < 0,05$). На 8-е сут после иммунизации ЭБ отмечалась супрессия продукции IgG (по числу АОК в селезенке), отражающая преимущественно функцию Th2-лимфоцитов, после интоксикации VX и метафосом соответственно в 1,37 и 1,34 раза ($p < 0,05$). Параметры, характеризующие клеточную гуморальную иммунные реакции и связанную

с ними функцию Th1- и Th2-лимфоцитов, при действии ФОС в среднем снижались соответственно в 1,86 и 1,35 раза. Это свидетельствует о том, что под влиянием антихолинэстеразных ядов в большей степени поражается функция Th1-лимфоцитов.

Применение антидота ФОС атропина сульфата при отравлении VX существенно увеличивало супрессирующее действие антихолинэстеразного токсиканта на функцию Th1- и Th2-лимфоцитов ($p < 0,05$). Карбоксим снижал редукцию активности Th1-клеток ($p < 0,05$) и практически полностью восстанавливал активность параметров, связанных с функцией Th2-лимфоцитов. Под влиянием карбоксима показатели, характеризующие функцию Th1-лимфоцитов, оставались статистически значимо меньшими, чем в контроле ($p < 0,05$).

Следует отметить, что при оценке влияния ФОС на функцию Th1- и Th2-клеток, мы не принимали во внимание действие ФОС на В-клетки (плазмоциты) при оценке числа АОК к ЭБ на 5 и 8-е сут после иммунизации, так как это практически не повлияло бы на полученные нами данные о сравнительной активности двух типов Th-лимфоцитов.

Правомерность нашего подхода, свидетельствующего о существенном различии в редукции активности Th1- и Th2-лимфоцитов при интоксикации ФОС, подтверждается оценкой концентрации цитокинов в крови крыс (табл. 2). При остром отравлении VX и метафосом в продуктивной фазе иммуногенеза выявлено уменьшение концентрации ИФН- γ на 5-е сут после иммунизации ЭБ в 2,23 и 1,95 раза ($p < 0,05$), а ИЛ-4 – в 1,59 и 1,52 раза ($p < 0,05$) соответственно. Аналогичные данные получены при исследовании концентрации цито-

Таблица 1

Влияние интоксикации ФОС (1,0 DL₅₀) в продуктивной фазе иммуногенеза на функцию Th1- и Th2- лимфоцитов (M \pm m, n = 8-9)

Серия опытов	Функция Th1-лимфоцитов		Функция Th2-лимфоцитов
	число АОК к ЭБ, 10 ³	прирост массы стопы, %	АОК к ЭБ, 10 ³
Контроль	43,1 \pm 3,5	39,1 \pm 3,2	18,2 \pm 1,7
VX	19,2 \pm 2,0*	22,0 \pm 1,9*	13,3 \pm 1,2*
Метафос	22,9 \pm 2,4*	25,4 \pm 2,3*	13,6 \pm 1,3*
VX + атропин	13,5 \pm 1,5**	16,2 \pm 1,7**	9,3 \pm 1,1**
VX + карбоксим	29,8 \pm 3,0**	22,4 \pm 2,3**	15,0 \pm 1,6

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем, ** – $p < 0,05$ по сравнению с контролем и показателем при интоксикации ФОС

Влияние интоксикации ФОС (1,0 DL₅₀) в продуктивной фазе иммуногенеза на содержание цитокинов в плазме крови крыс, пг/мл (M±m, n = 6)

Серия опытов		ИФН-γ	ИЛ-4	ИФНγ/ИЛ-4
Контроль	t	902±82	129±12	6,99±0,64
VX	5	405±49*	81±8*	5,00±0,56*
	8	367±45*	78±7*	4,70±0,50*
Метафос	5	463±42*	85±9*	5,44±0,53
	8	409±46*	83±7*	4,93±0,48*
VX + атропин	5	236±34**	42±6**	5,62±0,80
	8	227±30**	39±5**	5,82±0,75
VX + карбоксим	5	660±60**	95±8*	6,95±0,61 [#]
	8	671±62**	97±9*	6,92±0,64 [#]

Примечание: t – 5, 8 – время исследования после иммунизации, сут; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем, ** – $p < 0,05$ по сравнению с контролем и параметрами при интоксикации ФОС, [#] – $p < 0,05$ по сравнению с параметрами при интоксикации ФОС

кинов в крови на 8-е сут. Это свидетельствует о том, что по сравнению с ИЛ-4 концентрация ИФН-γ в крови под влиянием ФОС снижается в большей степени.

Применение атропина сульфата при отравлении VX существенно увеличивало редуцирующий эффект ФОС в равной степени на секрецию Th1- и Th2-лимфоцитами соответственно ИФН-γ и ИЛ-4 ($p < 0,05$). Назначение реактиватора холинэстеразы карбоксима снижало супрессию продукции ИФН-γ и ИЛ-4 ($p < 0,05$), обусловленную действием ФОС. При этом концентрация ИФН-γ увеличивалась по сравнению с показателями после отравления ФОС ($p < 0,05$), оставаясь ниже контрольного уровня ($p < 0,05$), а содержание в крови ИЛ-4 оставалось достоверно сниженным по сравнению с контролем ($p < 0,05$) и статистически значимо не отличалось от параметров после интоксикации VX. Использование атропина сульфата не изменяло соотношения ИФН-γ/ИЛ-4, а карбоксима – восстанавливало его до контрольного значения.

Уменьшение соотношения ИФН-γ/ИЛ-4 характеризует снижение функциональной активности лимфоцитов Th1-типа по сравнению с функцией Th2-клеток [5,6]. Нами установлено, что при действии VX и метафоса соотношение ИФН-γ/ИЛ-4 было существенно ниже контрольного уровня ($p < 0,05$) равного $6,99 \pm 0,64$ и составляло в среднем $5,02 \pm 0,26$ (при оценке на 5 и 8-е сут). Это свидетельствует о более выра-

женной супрессии под влиянием ФОС функции Th1-лимфоцитов по сравнению со снижением активности Th2-клеток. Вероятно, данный эффект обусловлен способностью ФОС активировать гипоталамо-гипофизарно-адреналовую систему, увеличивая в крови концентрацию кортикостерона [2, 3]. При этом известно, что данный гормон в большей степени снижает функцию лимфоцитов Th1-типа по сравнению с Th2-лимфоцитами [5]. Возможно также, что ФОС способны ингибировать в большей степени ацетилхолинэстеразу на клеточной мембране лимфоцитов Th1-типа и α-нафтил-AS-ацетатэстеразу и α-нафтилбутиратэстеразу в цитозоле этих клеток, а также большей ролью эстераз в реализации функций лимфоцитов Th1-типа [2]. Последнее предположение в определенной степени подтверждается способностью карбоксима в большей степени восстанавливать функцию Th1-клеток (по сравнению с активностью Th2-лимфоцитов), так как среднее значение соотношения ИФН-γ/ИЛ-4 существенно возросло ($p < 0,05$) с $5,02 \pm 0,26$ (действие ФОС) до $6,94 \pm 0,44$ (комбинированный эффект ФОС и карбоксима).

Увеличение редукции функции Т-клеток, участвующих в реализации различных иммунных реакций, атропином после отравления ФОС обусловлено суммацией супрессорных эффектов, связанных с ингибированием эстераз Т-лимфоцитов и одновременной блокадой м-холинорецепторов Th1- и Th2-клеток [2].

Карбоксим восстанавливает активность лимфоцитов Th1- и Th2-типа, вероятно, вследствие реактивации ацетилхолинэстеразы, локализованной на их клеточной мембране [10].

Полученные данные позволяют полагать, что относительное увеличение активности Th2-лимфоцитов по сравнению с функцией Th1-клеток при отравлении ФОС (а также при лечении отравления ФОС атропином) может приводить к увеличению вероятности вирусных инфекций (по сравнению с микробными) [5, 7, 9], а при использовании карбоксима возможность возникновения вирусных и микробных инфекционных заболеваний, по-видимому, одинакова.

Выводы. 1. Острое действие ФОС (VX и метафоса) в продуктивной фазе иммуногенеза в дозе, составляющей 1,0 DL₅₀, в большей степени снижает иммунные реакции, связанные с функцией Th1-лимфоцитов по сравнению с иммунным ответом, обусловленным активацией Th2-клеток.

2. Под влиянием ФОС в крови концентрация ИФН- γ , продуцируемого Th1-лимфоцитами, снижается в большей степени, чем концентрация ИЛ-4, синтезируемого Th2-клетками.

3. Применение атропина сульфата (однократно в дозе 10 мг/кг) при острой интоксикации ФОС (1,0 DL₅₀) увеличивало супрессию функции Th1- и Th2-лимфоцитов и синтеза ими соответственно ИФН- γ и ИЛ-4 в равной степени, а использование карбоксима (однократно, 10 мг/кг) частично восстанавливало преимущественно активность Th1-клеток и синтез ИФН- γ по сравнению с функцией Th2-лимфоцитов и продукцией ими ИЛ-4.

Список литературы

1. Жуков В.Е., Клаучек В.В., Шкодиц П.Е. // *Токсикол. вестник*, 2002.- № 5. – С. 31-35.

2. Забродский П.Ф., Мандыч В.Г. *Иммунотоксикология ксенобиотиков*. – Саратов: СВИБХБ, 2007. – 420 с.

3. *Общая токсикология* / Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – 608 с.

4. Петров А.Н., Софронов Г.А., Нечипоренко С.П. и др. // *Рос. хим. ж.*, 2004. – Т. XLVIII. – № 2. – С. 110-116.

5. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. *Иммунология* / Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 582 с.

6. Сухих Г.Т., Касабулатов Н.М., Ванько Л.В. и др. // *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, 2005. – Т. 140. – № 12. – С. 622-624.

7. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. *Иммунология*. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2002. – 536 с.

8. Amitai G., Adani R., Fishbein E. et al. // *J. Appl. Toxicol.*, 2006. – V. 26. – № 1. – P. 81-87.

9. Asquith B., Zhang Y., Mosley A.J. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007. – V. 104. – № 19. – P. 8035-8040.

10. Kutty K.M., Chandra K., Chandra S. // *Experientia*, 1976. – V. 32. – № 3. – P. 289.

11. Lenz D.E., Maxwell D.M., Korlovich I. et al. // *Chem. Biol. Interact.*, 2005. – V. 157-158. – P. 205-210.

12. Sharp D. *Long-term effects of sarin* // *Lancet*, 2006. – V. 14. – № 367 (9505). – P. 95-97.

13. Shin T.M., Kan R.K., McDonough J.H. // *Chem. Biol. Interact.*, 2005. – V. 157-158. – P. 293-303.

14. Smialowicz R.J., Luebke R.W., Riddle M.M. // *Toxicology*, 1992. – V. 75. – № 5. – P. 235-247.

15. Tremolada P., Finizio A., Villa S. et al. // *Aquat. Toxicol.*, 2004. – V 67. – № 1. – P. 87-103.

Переработанный экземпляр статьи
поступил в редакцию 06.03.09.

P.F. Zabrodskii², V.F. Kirichuk¹, V.G. Lim¹, I.Kh. Yafarova¹

MODULATION OF ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS BY ANTIDOTES IN IMMUNE RESPONSES AND SYNTHESIS OF CYTOKINS ASSOCIATED WITH FUNCTIONING OF TH1-, TH2-LYMPHOCYTES

¹Saratov State Medical University

²Saratov Military Institute of Chemical and Biological Safety

It was established in experiments on Wistar rats that at acute poisoning by a LD₅₀ single dose of organophosphorus compounds (agent VX, metaphos) in the productive phase of immunogenesis, the suppression of immune responses and reduced concentration of cytokins (IFN γ , IL-4) in blood together with decreasing correlation of IFN- γ , and IL-4 showed that the reduced function of Th1-lymphocytes as compared to Th2-cells was more expressed. Atropine sulfate (single dose 10 mg/kg) promoted the decrease of the activity of both Th1- and Th2-lymphocytes and their synthesizing of cytokins in an equal way; in its turn karboxim (single dose 10 mg/kg,) partly restored in the main the activity of Th1-cells and synthesis of IFN- γ .

УДК 615.9:547.963.32+577.1

С.Д. Иванов, С.Е. Колбасов, В.А. Ямшанов, Е.Г. Кованько, А.С. Монахов,
М.В. Мелихова, А.С. Иванова, О.А. Вакуненко, К.Б. Стрельников**ЭКСПРЕССНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИКОГЕНОМНЫХ ЭФФЕКТОВ
НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА***ФГУН Институт токсикологии ФМБА России**ФГУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Минздрава России, С.-Петербург*

Разработан метод экспрессной прижизненной количественной характеристики токсикогеномных эффектов при физико-химических воздействиях на организм мелких лабораторных животных путем анализа содержания и структуры ДНК нуклеотидов лейкоцитов крови с помощью флуоресцентных красителей. Данный подход был применен для выявления токсикогеномных эффектов после воздействия несимметричного 1,1-диметилгидразина (нДМГ). В ранние сроки (24 ч) после однократного в/ж введения нДМГ крысам наблюдали (независимо от дозы воздействия — 70, 140 или 200 мг/кг) биохимические изменения, отражавшие увеличение степени апоптоза белых клеток крови. Через 1 месяц после однократного введения нДМГ у крыс, несмотря на определенное восстановление показателей, были зарегистрированы дозозависимые остаточные токсикогеномные эффекты. В результате хронического ингаляционного введения нДМГ (концентрация 100 мг/м³, ежедневно по 4 ч, в течение 1 мес.) у животных было отмечено повышение апоптотических реакций и увеличение числа разрывов в ДНК лейкоцитов крови.

Ключевые слова: содержание и структура ДНК нуклеотидов лейкоцитов крови, диметилгидразин, токсикогеномные эффекты.

Введение. Несимметричный 1,1-диметилгидразин (нДМГ) является высокотоксичным веществом 1-го класса опасности [18]. Он вызывает отравление при любом пути поступления в организм: вдыхании паров, попадании внутрь с пищей, водой и через кожу. Адсорбция происходит довольно быстро, так у собак при нанесении на кожу нДМГ появляется в крови уже в течении 30 секунд [13]. Далее токсикант распределяется по всем органам и тканям и оказывает политропное действие на организм, в том числе нейротоксическое, гемолитическое, гепатотропное. У людей описано 6 случаев жировой печени, связанной с повышением уровня аланинаминотрансферазы среди 26 лиц, работавших с жидким ракетным топливом (включающим как компонент нДМГ) в течение 5 лет [11]. Однако достаточного числа эпидемиологических наблюдений для человека пока не опубликовано.

В экспериментах выявлены, помимо общетоксического действия, канцерогенные и мутагенные эффекты нДМГ.

Относительно опухолеобразования известно, что ежедневное введение нДМГ в дозе 0,5 мг с питьевой водой 5 раз в неделю в течение 40 недель 25-ти самкам мышей линии Swiss приводило к образованию опухолей легких у 1 из 8-ми животных (с учетом множественности новообразований — 0,25 опухолей на мышшь), погибших между 40 и 45 неделями, и у 4-х из 9-ти живот-

ных (2,6 опухолей на мышшь), погибших между 50 и 60 неделями [12]. У 85 контрольных животных в те же самые периоды времени опухоли легких развились лишь у 3-х из 37-ми мышшей (0,05 опухолей на мышшь) и у 6-ти из 42-х животных (0,2 опухолей на мышшь), то есть в 5–13 раз меньше.

Введение 0,01 % нДМГ с питьевой водой 50-ти самцам и 50-ти самкам мышей линии Swiss приводило к высокой частоте образования ангиосарком (79 %) в различных органах. Кроме того, наблюдались опухоли легких (71 %), почек (10 %) и печени (6 %). Средний латентный период различных опухолей был в пределах 42–61 недели [15, 16].

У крыс линии VD, получавших нДМГ с питьевой водой в дозе 70 мг ежедневно в течение жизни, через 540, 806 и 1100 дней (суммарные дозы 36, 60 и 82 г/кг массы тела) карциномы печени развились у 3-х из 20-ти животных [9].

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют, что нДМГ является канцерогенным для мышшей в случае орального введения препарата. Наблюдение небольшого числа опухолей печени после орального введения нДМГ в высоких дозах, имеющего место у крыс после длительного латентного периода, не позволяет должным образом оценить канцерогенный эффект у этого вида животных.

Мутагенный эффект нДМГ выражался в увеличении числа клеток с хромосомными абер-

рациями, преобладании хроматидных мостов и фрагментов. Мутации являются результатом нарушений репарации ДНК и представляют собой результат повреждающего воздействия физических, химических и биологических агентов на геном соматических и зародышевых клеток. При физико-химических воздействиях окружающей среды (относящимся, как правило, к низкодозовым воздействиям) нерепарированные токсикогеномные эффекты могут привести к отдаленным последствиям, связанным с нарушениями в системе кроветворения и в репродукции у человека и млекопитающих, увеличением частоты опухолеобразований, сокращению продолжительности жизни и т. д. Недавно было показано мутагенное действие нДМГ при его ингаляционном введении в высоких концентрациях – 205–1028 мг/м³ самцам крыс различного возраста [4]. Однако выявление токсикогеномных реакций после поражающих воздействий в более низких дозах, что в перспективе может быть основанием прогнозирования отдаленных эффектов, сдерживается отсутствием подходящих методов.

Одним из часто используемых способов идентификации действия генотоксических агентов в организме мелких лабораторных животных является учет хромосомных aberrаций в культивируемых лимфоцитах [5], но при массовых исследованиях использование цитогенетического метода осложняется трудоемкостью и длительностью анализа. Для статистически достоверной оценки генотоксичности какого-либо воздействия на достаточном числе тестируемых объектов желательнее иметь чувствительный и вместе с тем более быстрый метод. В настоящее время для оценки токсикогеномных эффектов, наряду с давно апробированными методами (определением числа разрывов цепей ДНК, подсчетом хромосомных aberrаций, микроядерным тестом), используются новые приемы: ряд показателей апоптоза, «кометный» тест, цитогенетический анализ в сочетании с флуоресцентной *in situ* гибридизацией (FISH-метод) и другие подходы, которые позволяют определить ранние и отсроченные повреждения в геноме на основании изменений содержания и структуры клеточной ДНК. Ранее нами было показано, что определение содержания ДНК нуклеоидов лейкоцитов крови с помощью флуоресцентных красителей может быть успешно применено для быстрой оценки генотоксичности в соматических клетках и диагностики лучевых поражений человека и животных [1-3].

Задачей настоящей работы явилось определение токсикогеномных эффектов нДМГ в крови крыс с использованием вновь разработанных способов, что даёт возможность существен-

но сократить общее время анализа после воздействия данного химического токсиканта.

Материал и методы исследования. *Группа животных и их обработка.* Методическая часть исследования была отработана в специально проведенном модельном эксперименте на крысах-самках (массой 160–180 г) в возрасте 4–5 мес. разводки питомника ФГУ «РНЦРХТ». Животные были разделены на 4 группы по 3–4 крысы в каждой. Контролем служили крысы, не подвергавшиеся никаким повреждающим воздействиям (1-я группа). Крысы 2 и 4-ой групп в качестве модельного повреждающего воздействия подвергали общему однократному рентгеновскому облучению в дозе – 25 сГр на аппарате РУМ-17 (напряжение 200 кВ, ток 15 мА, фильтр – 2мм Cu + 1 мм Al; мощность поглощенной дозы 0,16 Гр/мин). Крысы 3 и 4-ой групп в течение 3 мес. до рентгеновского воздействия и 1 мес. после облучения получали с питьевой водой *ad libitum* химический токсикант – соль ртути Hg₂(NO₃)₂ в допустимой концентрации – 1 мкг/л в расчете на металл. Измерение цитогенетических и биохимических показателей проводили в одной и той же пробе крови через 4 мес. после начала эксперимента.

Для оценки токсикогеномных эффектов нДМГ препарат вводили беспородным белым крысам самцам массой 180–200 г внутрижелудочно (в/ж) в дозах: 1-я – 70 мг/кг (1/2 DL₁₆), 2-я – 140 мг/кг (DL₁₆) или 3-я – 200 мг/кг (DL₅₀) однократно. В качестве стандарта при оценке токсикогеномных реакций применили метилнитрозомочевину (МНМ) [19], растворённую в 50 % этаноле, в дозе 60 мг/кг массы тела.

Подострое воздействие осуществляли ингаляционно при концентрации нДМГ равной 100 мг/м³. Эксперименты по оценке ингаляционной токсичности проводили на белых нелинейных крысах-самках массой 160–180 г. Динамическое ингаляционное воздействие композицией осуществляли в камерах Б.А. Курляндского объёмом 107 л каждая. Для этого крыс-самцов помещали на промежуточный сетчатый пол камеры. В ходе экспериментов расход воздуха через камеру составлял 10 л/мин, время воздействия – 4 ч. Дозированную подачу аэрозоля с учетом сорбционных потерь на стенках камеры и в воздуховодах (40 %) осуществляли с помощью оригинального паро-аэрозольного дозирующего генератора гравиметрическим методом. В ходе эксперимента наблюдали картину интоксикации, фиксировали гибель животных в течение 14 дней после начала воздействия и проводили патологоанатомическое вскрытие погибших крыс. Среднесмертельную концентрацию ингаляционного воздействия рассчитывали ме-

тодом Литчфильда-Уилкоксона. В данных условиях она составляла 600 мг/м³.

Методы оценки токсикогенных эффектов.

Цитогенетический метод. Для определения количественных и структурных цитогенетических показателей в лимфоцитах крыс применяли полумикрометод культивирования цельной крови животных, как описано ранее [5]. Для этого 0,25–0,3 мл крови из хвостовой вены крыс, подвергнутых вышеупомянутым радиационно-ртутным воздействиям, культивировали в течение 70 ч при 37,6 °С и готовили метафазные препараты для хромосомного анализа. Визуализацию цитогенетического показателя проводили на микроскопе МБИ-15 под масляной иммерсией на метафазных пластинках при рутинном окрашивании хромосом. Учитывали клетки со всеми видимыми структурными (хромосомные и хроматидные разрывы, транслокации, кольцевые хромосомы, ди- и трицентрики, парные и одиночные фрагменты) и количественными нарушениями (гиперанеуплоидию и полиплоидию). Анализировали не менее 100 клеток у каждого животного.

Биохимические методы анализа токсикогенных эффектов. Другим способом оценки токсикогенных эффектов в белых клетках крови являлся модифицированный нами метод, основанный на определении величин показателей ДНК нуклеотидов лейкоцитов крови, как описано ранее [2].

Величину показателя индекс ДНК (ИД) вычисляли как отношение концентрации ДНК (мкг/мл) к количеству лейкоцитов в 1 мл крови. Для этого пробы крови из хвостовой вены крыс объемом 0,02 мл обрабатывали в течение 3–5 мин 0,2 мл лизирующей смеси, предназначенной для получения нуклеоида. Состав смеси: 2,0 М NaCl, 0,1 М Na₂ЭДТА, 0,01 М трис, 0,5 % тритон X-100, рН 8,0. Измерение содержания ДНК в лизированных пробах осуществляли флуориметрически с использованием 4',6-диамидино-2-фенилиндола (ДАФИ) (фирма «Serva» Германия) при конечной концентрации флуорохрома 0,1 мкг/мл. Вариации определявшегося нами ИД обусловлены изменениями количества флуорохрома, взаимодействующего с ДНК нуклеоида, который образовался в результате лизиса клеток в присутствии комплексона (Na₂EDTA), в условиях высокой ионной силы (2М NaCl) и наличия детергента (тритона X-100). Структура ДНК в нуклеоиде близка к нативной, но лишена комплексообразующих, белковых и липидных компонентов, что облегчало связывание красителя с субстратом. Для учета условий измерений в лизатах крови, расчет количества ДНК в пробах осуществляли относительно введенно-

го в образец стандарта. В качестве его использовали обработанную ультразвуком ДНК тимуса теленка (фирма «Serva», Германия) в концентрации 25 мкг/мл [2].

Все измерения флуоресценции осуществляли в буфере – 0,01 М трис, 0,1 М NaCl, 0,01 М Na₂ЭДТА, рН 7,2–7,4 на спектрофлуориметре «Model 850» фирмы «Hitachi», Япония, или другом, имеющим для ДАФИ длину волны возбуждения – $\lambda_{\text{возб.}} = 350$ нм и длину волны эмиссии – $\lambda_{\text{эм.}} = 450$ нм.

Значение ИД лейкоцитов периферической крови интактных крыс (выраженные в пг/кл) принимали соответствующим диплоидному (2с) содержанию ДНК белых клеток крови. Если значение ИД было меньше 2с, то считали, что число клеток, имеющих количество ДНК меньше диплоидного, было увеличено за счет апоптозной гибели ДНК содержащих клеток крови. Такие изменения величин ИД были верифицированы путем параллельного анализа отдельных проб с помощью проточной цитометрии [1].

Увеличение величины ИД было обусловлено повышением количества клеток с анеуплоидным и тетраплоидным содержанием ДНК, что было определено путём цитогенетического анализа тех же проб [2]. Количественные изменения суммарного числа хромосомных aberrаций в лимфоцитах после радиационно-ртутных воздействий, определённые в одной и той же пробе крови крыс с помощью хромосомного анализа лимфоцитов, и результаты определения ИД вышеописанным методом, основанным на флуориметрии ДНК нуклеотидов лейкоцитов, достаточно хорошо совпадали. Регрессионный анализ индивидуальных значений числа лимфоцитов с хромосомными aberrациями (%) и соответствующих значений ИД лейкоцитов крови позволил установить достоверную взаимосвязь между этими показателями:

$$\text{ХрАб} (\%) = \infty 2,03 + 0,39 \cdot \text{ИД} (\text{пг/кл});$$

$$R = 0,820; p < 0,01.$$

Следовательно, предлагаемый способ определения суммарного числа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови крыс после радиационно-ртутных воздействий дает возможность оценить уровень генетических повреждений подобно цитогенетическому тесту.

Регрессионный анализ индивидуальных значений числа анеуплоидных и полиплоидных лимфоцитов (%) и соответствующих значений ИД лейкоцитов крови крыс позволил обнаружить более значимую ($R = 0,992; p < 0,001$) взаимосвязь между этими показателями:

$$\text{ХрАб}_{\text{анеу+полипл}} (\%) = 0,1 + 0,14 \cdot \text{ИД} (\text{пг/кл})$$

Таким образом, вышеописанный способ определения ИД в лейкоцитах крови крыс после

модельных радиационно-ртутных воздействий даёт возможность определить как увеличение числа апоптотически гибнущих лейкоцитов, так и процент анеуплоидных и полиплоидных лимфоцитов.

Кроме того, для характеристики изменений структуры ДНК в пробах, лизированных в условиях получения нуклеоида, применили двухпараметровый критерий: один параметр был связан со степенью суперспирализации полинуклеотида, а другой отражал общее количество зондируемой ДНК. Для этого использовали специфические флуоресцентные зонды: этидий бромид – интеркалятор, у которого свечение в комплексе с ДНК зависит от степени сверхскрученности зондируемого субстрата [7], и ДАФИ – лиганд, при низких концентрациях связывающийся вдоль цепи ДНК неинтеркалирующим образом [8]. Ранее было показано, что изменения числа молекул этидий бромида, взаимодействующего с ДНК нуклеоида, обусловлены релаксацией суперспиральной структуры полинуклеотида, которая связана с разрывами его пентозофосфатных цепей после облучения [6]. Рабочая концентрация этидий бромида составляла 4,0 мкг/мл. Измерения интенсивности флуоресценции проб, окрашенных этидий бромидом, осуществляли при длине волны возбуждения – $\lambda_{\text{возб.}} = 510$ нм и длине волны эмиссии – $\lambda_{\text{эм.}} = 590$ нм, при окраске ДАФИ – как описано выше на флуоресцентном спектрофотометре «Model-850» («Hitachi», Япония).

Структурное состояние ДНК, зондируемой двумя флуорохромами, оценивали с помощью коэффициента относительной флуоресценции (КОФ), который рассчитывали по формуле:

$$\text{КОФ} = K \cdot \text{ИФ}_{\text{БЭ}} / \text{ИФ}_{\text{ДАФИ}},$$

где: $\text{ИФ}_{\text{БЭ}}$ и $\text{ИФ}_{\text{ДАФИ}}$ – величины интенсивностей флуоресценции проб, окрашенных этидий бромидом и ДАФИ, соответственно, с вычетом фоновой флуоресценции; K – коэффициент, учитывающий разбавление проб и стандартной ДНК в кювете измерения, а также величины интенсивностей флуоресценции раствора стандарта.

Статистический анализ между количеством лимфоцитов с хромосомными и хроматидными разрывами и величиной КОФ ДНК лейкоцитов выявил достоверную взаимосвязь между измеренными параметрами ($R = 0,827$; $p < 0,05$):

$$\text{ХрАб}_{\text{хром. разрывы}} (\%) = 5,3 + 7,4 \cdot \text{КОФ} \text{ (отн. ед.)}$$

Количественное определение разрывов в ДНК лейкоцитов с использованием флуоресцентной индикации, включающей применение интеркалятора – этидий бромида, ранее также было осуществлено другими авторами [6], одна-

ко их подход требует гораздо больше материала для анализа, чем предлагаемый нами для определения КОФ. Для разработанного нами анализа необходимо всего 0,01–0,02 мл цельной крови, что позволяет использовать его для прижизненного анализа мелких лабораторных животных. Таким образом, определение величины КОФ позволяет определить число клеток с хромосомными и хроматидными разрывами и таким путём оценить уровень соответствующих токсикогеномных эффектов.

Большинство тестов, используемых для выявления повреждающих воздействий в геноме, требует достаточно длительного времени для определения соответствующих показателей. Так, общее время, необходимое для цитогенетического определения хромосомных aberrаций, составляет несколько дней. Для получения результатов оценки генотоксичности в тестах *in vitro* (тест Эймса, микроядерный тест на культуре первичных гепатоцитов крысы или клеток растений) согласно литературным данным [10] требуется не менее 48 ч только для инкубации клеток. Время определения показателя кометного теста и метода щелочного раскручивания ДНК составляет от 8 ч до 1 суток. Недавно разработанный метод оценки генотоксичности с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени также требует не менее одного рабочего дня для своего выполнения [14]. В предлагаемом нами подходе для определения величин ИД и КОФ ДНК необходимо примерно всего 10–15 мин. Следовательно, использование этих показателей позволяет гораздо более оперативно осуществлять контроль и можно рекомендовать их для экспрессной оценки геномповреждающих эффектов в соматических клетках млекопитающих после физико-химических воздействий.

Гематологические методы. Общее количество лейкоцитов и их отдельных фракций в крови крыс были исследованы с помощью рутинных гематологических методов (камерно-меланжерного, окраски и анализа мазков крови на стеклах).

Методы статистической обработки результатов. Экспериментальные данные обрабатывали с использованием непараметрического U -критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и стандартных программ корреляционного и регрессионного анализа.

Результаты и обсуждение. Результаты оценки ранних токсикогеномных реакций – через 24 ч после однократного действия нДМГ с использованием разработанного экспрессного метода представлены в табл. 1.

Как можно видеть из приведенных в табл. 1 данных, введение МНМ, использованной в ка-

Изменения числа лейкоцитов, содержания и структуры их ДНК через 24 ч после однократного введения препаратов

Группа животных (число крыс)	Число лейкоцитов · 10 ⁹ кл/л	ИД (отн. ед.)	КОФ (отн. ед.)
Интактный контроль (4)	11,0±0,5	7,14±0,70	1,30±0,12
Введение этанола (10)	17,1±1,2	4,67±0,32	1,36±0,08
Введение МНМ (8)	9,7±0,7***	3,69±0,31*	1,61±0,19
Введение 1-й дозы нДМГ (8)	14,7±1,4 [#]	3,92±0,40 [#]	1,51±0,11
Введение 2-й дозы нДМГ (5)	15,7±1,1 [#]	4,75±0,49 [#]	1,20±0,09
Введение 3-й дозы нДМГ (6)	16,5±1,6 [#]	4,04±0,34 [#]	1,38±0,14

Примечания: знаками * и *** помечены величины, достоверно ($p < 0,05$ и $p < 0,001$) отличающиеся от показателей в группе с введением этанола; знаком [#] помечены величины, достоверно ($p < 0,05$) отличающиеся от показателей в группе интактных животных.

честве стандарта, приводило как к значимой ранней гематотоксической реакции – число лейкоцитов снижалось до 57 % по сравнению с соответствующим контролем, так и к токсикогенному эффекту – величина ИД снижалась до 79 % относительно контроля. Эти результаты согласуются с известными литературными данными [17]. Анализ лейкоцитарных формул показал, что гематотоксичность МНМ была обусловлена, в основном, лимфоцитарной фракцией белых клеток крови (число лимфоцитов снижалось до 41,4±8,9 % по сравнению с контролем).

После введения нДМГ также наблюдались ранние токсикогенные реакции, судя по снижению величин ИД в сравнении с интактным контролем, независимо от величины подведенной дозы, однако гематотоксических реакций, связанных с лейкопенией, не наблюдалось. Более того, можно отметить даже некоторое повышение числа циркулирующих лейкоцитов в

сравнении с контролем. Таким образом, в ранние сроки после введения нДМГ происходило увеличение количества апоптотически гибнущих лейкоцитов, но в организме животных наблюдались компенсаторные реакции, возможно связанные с ускоренным выходом белых клеток крови из депо на периферию.

Результаты определения числа лейкоцитов и показателей содержания и структуры ДНК лейкоцитов крови через 1 мес. после однократного введения токсикантов представлены в табл. 2. Из приведенных в табл. 2 данных можно видеть, что через 1 мес. после введения токсического стандарта – МНМ наблюдалось восстановление измерявшихся гематологических и биохимических показателей до контрольных значений.

В случае введения нДМГ в 1-й дозе не наблюдалось значимых отличий измерявшихся показателей в сравнении с показателями в группе интактных животных, то есть в течение 1 мес. про-

Изменения числа лейкоцитов, содержания и структуры их ДНК через 1 месяц после однократного введения препаратов

Группа животных (число крыс)	Число лейкоцитов · 10 ⁹ кл/л	ИД (отн. ед.)	КОФ (отн. ед.)
Интактный контроль (7)	12,4±1,3	7,14±1,25	1,01±0,06
Введение этанола (11)	13,5±1,7	7,31±1,37	1,32±0,15
Введение МНМ (7)	13,7±2,2	6,30±1,74	1,10±0,11
Введение 1-й дозы нДМГ (8)	10,7±1,3	9,47±1,30	1,03±0,10
Введение 2-й дозы нДМГ (5)	17,8±2,0 [#]	4,09±0,75 [#]	1,03±0,14
Введение 3-й дозы нДМГ (6)	15,8±2,9	5,21±0,58 [#]	1,21±0,02 [#]

Примечание: знаками [#] и ^{##} – помечены величины, достоверно отличающиеся от показателей в группе интактных животных ($p < 0,05$ и $p < 0,01$, соответственно)

Изменения числа лейкоцитов, содержания и структуры их ДНК через 1 месяц после хронического введения нДМГ

Группа животных (число крыс)	Число лейкоцитов · 10 ⁹ кл/л	ИД (отн. ед.)	КОФ (отн. ед.)
Интактный контроль (7)	12,4±1,3	7,14±1,02	0,93±0,03
Введение нДМГ (10)	16,7±1,3 [#]	3,99±0,61 [#]	1,19±0,11 [#]

Примечание: знаком [#] помечены величины, достоверно отличающиеся от показателей в группе интактных животных ($p < 0,05$)

исходило восстановление общего числа лейкоцитов и измерявшихся биохимических параметров до контрольных уровней. Вместе с тем в этой группе подопытных крыс следует отметить достоверное ($p < 0,01$) снижение числа лимфоцитов до 70 % по сравнению с величиной, определенной в группе интактного контроля. После введения нДМГ во 2-й дозе следует отметить снижение величины ИД и повышение числа лейкоцитов (возможно компенсаторное) относительно показателей в группе интактного контроля. В случае введения нДМГ в 3-й дозе не было отмечено подобного возрастания числа лейкоцитов, но при этом наблюдалось снижение величины ИД и повышение показателя КОФ (отражающего увеличение числа разрывов в ДНК) в сравнении с показателями контрольной группы. Таким образом, увеличение дозы повреждающего агента — нДМГ приводило к повышению уровня генетических нарушений у самок крыс, что согласуется с данными других авторов, полученных на половозрелых самцах [4].

Результаты определения числа лейкоцитов и показателей содержания и структуры ДНК лейкоцитов крови после хронического введения токсиканта в течение 1 мес. представлены в табл. 3. Как можно видеть из представленных данных, хроническое введение нДМГ в 1-й дозе в течение 1 мес. приводило к значимому снижению величины ИД и увеличению числа лейкоцитов и показателя КОФ. Вместе с тем, значительных изменений в лейкоцитарной формуле обнаружено не было. Это свидетельствовало об увеличении доли апоптотически гибнущих лейкоцитов, повышении числа разрывов в ДНК лейкоцитов самок крыс, что сопровождалось, по-видимому, компенсаторным повышением числа белых клеток крови. Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов о значимом увеличении аббераций хроматидного типа в клетках костного мозга после воздействия нДМГ половозрелым самцам крыс в высоких концентрациях — 205–1028 мг/м³ [4]. В отличие от этих авторов мы выявили токсикогеномные нарушения в лейкоцитах при воздействии более низкой концентрации нДМГ — 100 мг/м³.

Заключение. На основании флуоресцентного анализа содержания ДНК нуклеоидов белых клеток крови разработан способ прижизненной экспрессной оценки степени апоптоза или анеуплоидии, а на основании флуоресцентного анализа структуры ДНК — метод определения хромосомных и хроматидных разрывов в ДНК лейкоцитов крови мелких лабораторных животных после физико-химических воздействий в низких дозах.

По сравнению с цитогенетическим методом, способ имеет ряд существенных преимуществ — значительно сокращается время выполнения процедуры (до 10–15 мин, тогда как известные методы требуют от одних до нескольких суток, что может быть решающим в случае чрезвычайных ситуаций), кроме того, в 10–20 раз (до 0,02–0,05 мл) уменьшается материалоемкость для осуществления анализа крови.

В ранние сроки (через 24 ч) однократного после в/ж введения нДМГ самцам крыс наблюдались (независимо от дозы воздействия — 70, 140 или 200 мг/кг) биохимические эффекты, выражавшиеся в увеличении степени апоптоза белых клеток крови.

Через 1 мес. после однократного введения нДМГ в дозе 70 мг/кг у крыс было зарегистрировано восстановление биохимических показателей, но при этом было снижено число лимфоцитов крови, после действия нДМГ в дозе 140 мг/кг у животных было повышено число апоптотически гибнущих лейкоцитов, а после действия нДМГ в дозе 200 мг/кг повышалась как степень апоптоза белых клеток крови, так и число разрывов в их ДНК.

В результате подострого хронического ингаляционного воздействия нДМГ (концентрация 100 мг/м³ ежедневно 4 ч в течение 1 мес.) у животных было отмечено повышение апоптотических реакций и увеличение числа разрывов в ДНК лейкоцитов крови.

Список литературы

1. Иванов С.Д., Кованько Е.Г., Попович И.Г. и др. Оценка генотоксичности и отдаленных эффектов радиационно-химических воздействий. // Радиационная биология. Радиоэкология, 1999. — Т. 39. — № 4. — С. 418–424.

2 **Иванов С.Д., Собуцкий М.П., Монахов А.С. и др.** Экспрессная оценка генотоксических эффектов низких доз радиационно-ртутных воздействий. // *Токсикол. вестник*, 2008. — № 1. — С. 21-25.

3 **Иванов С.Д., Ямианов В.А., Кованько Е.Г. и др.** Сравнительная оценка пострадиационных генотоксических эффектов в клетках млекопитающих биохимическими и цитогенетическим методами // *Бюл. exper. биол.*, 2006. — Т. 142. — № 12. — С. 635-638.

4 **Колумбаева С.Ж., Шалахметова Т.М., Бегимбетова Д.А. и др.** Мутагенное действие компонента ракетного топлива несимметричного диметилгидразина на крыс разного возраста // *Генетика*, 2007. — Т. 43. — С. 742-746.

5 **Монахов А.С.** Методические рекомендации по прижизненному цитогенетическому исследованию мутагенеза у мелких лабораторных животных (крыс и кроликов). — Л., 1984. — 15 с.

6 **Birnboim H.C., Jevcak J.J.** Fluorometric method for rapid detection of DNA strand breaks in human white blood cells produced by low doses radiation // *Cancer Res.*, 1981. — V. 41. — P. 1889-1892.

7 **Cook P.R., Brazell I.A.** Spectrofluorometric measurement of the binding of ethidium to superhelical DNA from cell nuclei // *Eur. J. Biochem.*, 1978. — V. 84. — P. 465-477.

8 **Daxhelet G.A., Coene M.M., Hoet P.P. et al.** Spectrofluorometry of dyes with DNA's of different base composition and conformation // *Anal. Biochem.*, 1989. — V. 179. — № 2. — P. 410-413.

9 **Druckrey H., Preussman R., Ivankowic S. et al.** Organotrope carcinogenic Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD Ratten // *Z. Krebsforsch.*, 1967. — Bd. 69. — S. 103-120.

10 **Helma C., Eckl P., Gottmann E. et al.** Genotoxic and ecotoxic effects of groundwaters and their relation to routinely measured chemical parameters // *Environ. Sci. Technol.*, 1998. — V. 32. — P. 1799-1805.

11 **Petersen P., Bredahl E., Lauritsen O. et al.** Examination of the liver in personnel working with liquid rocket propellant // *Brit. J. Industr. Med.*, 1970. — V. 27. — P. 141-143.

12 **Roe F.J., Grant G.A., Millican D.M.** Carcinogenicity of hydrazine and 1,1-dimethylhydrazine for mouse lung // *Nature*, 1967. — V. 216. — P. 375-376.

13 **Smith E.B., Clark D.A.** Absorption of unsymmetrical dimethylhydrazine (UDMH) through canine skin // *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1971. — V. 18. — P. 649-652.

14 **Soberon N., Martin R., Suarez J.E.** New method for evaluation of genotoxicity, based on the use of real-time PCR and lysogenic gram-positive and gram-negative bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007. — V. 73. — P. 2815-2819.

15 **Toth B.** Comparative studies with hydrazine derivatives. Carcinogenicity of 1,1-dimethylhydrazine, unsymmetrical (1,1-DMH) in the blood vessels, lung, kidneys, and liver of Swiss mice // *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1972. — V. 13. — P. 34-37.

16 **Toth B.** 1,1-Dimethylhydrazine (unsymmetrical) carcinogenesis in mice. Light microscopic and ultrastructural studies on neoplastic blood vessels // *J. Nat. Cancer Inst.*, 1973. — V. 50. — P. 181-185.

17 **Tronov V.A., Kramarenko L.I., Kozlova A.D. et al.** Sensitivity of human lymphocytes to genotoxic effect of N-methyl-N-nitrosourea: possible relation to gynecological cancers // *Experim. Oncology*, 2006. — V. 28. — № 4. — P. 314-318.

18 **U.S. Environmental Protection Agency.** Integrated risk information system (IRIS) on 1,1-dimethylhydrazine. Environmental Criteria and Assessment Office, Office of Health and Environmental Assessment, Office of Research and Development. Cincinnati, 1993.

Переработанный экземпляр статьи
поступил в редакцию 10.03.09.

**S.D. Ivanov, S.Ye. Kolbasov, V.A. Yamshanov, Ye.G. Kovanko, A.S. Monakhov,
M.V. Melikhova, A.S. Ivanova, O.A. Vakunenko, K.B. Strelnikov**

**EXPRESS ASSESSMENT OF TOXICOGENOMIC EFFECTS
POSED BY ASYMMETRIC DIMETHYLHYDRAZINE**

*Institute of Toxicology
Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg*

A method for an express life-time quantitative evaluation of toxicogenomic effects from physico-chemical exposure to small laboratory animals was worked out by analyzing the content and structure of leukocyte nucleoides DNA with the use of fluorescent dyes. This approach was applied to find out toxicogenomic effects after the exposure to asymmetric 1,1-dimethylhydrazine (aDMH). Biochemical alterations reflecting an increased incidence of white cell apoptosis in blood and not relating to the dose (70, 140 or 200 mg/kg) were observed in the early period (24h) after a single intragastric administration of aDMH to rats. Despite a certain recovery of indices, a month after a single administration of aDMH to rats residual dose-dependent toxicogenomic effects were observed. As a result of the chronic inhalation exposure to aDMH (concentration of 100 mg/m³, 4h every day for a month), the rise in apoptotic responses and leukocyte DNA breaks in blood were registered.

УДК 612.123.014.46

В.К. Макаров, Д.С. Рясенский*

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УПОТРЕБЛЕНИЯ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН ГИДРОХЛОРИДА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ СЫВОРОТКИ КРОВИ*Тверская государственная медицинская академия*

Изучен липидный спектр сыворотки крови у 62 пациентов с токсическим гепатитом, вызванным употреблением спиртосодержащих продуктов бытовой химии, содержащих полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, и у 50-ти здоровых лиц.

Показано, что продукты бытовой химии, содержащие полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, вызывают у человека развитие токсического гепатита, который сопровождается значительными нарушениями метаболизма липидов.

Ключевые слова: токсический гепатит, липидный спектр, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид.

Введение. Летом и осенью 2006 г. участились случаи отравления спиртосодержащими продуктами бытовой химии. В Тверской области наибольшее количество больных было в городах Ржев, Конаково, Кимры, Кашин, Бежецк. Общее число случаев отравления суррогатами алкоголя на 23 ноября 2006 г. оценивалось в 10400 человек. В письме Минздравсоцразвития России 5847-РХ от 22.11.2006 веществом, вызывающим токсический гепатит, назван полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ) [1].

Данное химическое соединение входит в состав целого ряда дезинфектантов, например, полидеза, который, помимо ПГМГ, содержит ещё и изопропиловый спирт. В эксперименте на крысах было выяснено, что ПГМГ обладает гонадотоксичным действием. Кроме того, у погибших животных обнаружено полнокровие печени и лёгких [2].

Целью настоящего исследования явилось определение влияния употребления суррогатов алкоголя (дезинфицирующих средств), содержащих ПГМГ на состояние липидного состава крови.

Материал и методы исследования. Нами были исследованы показатели липидного спектра сыворотки крови у 62 пациентов токсическим гепатитом без маркёров вирусных гепатитов, вызванным употреблением суррогатов алкоголя, содержащих ПГМГ, и у 50-ти здоровых лиц. Обследованные лица были в возрасте от 25 до 55 лет.

Липиды выделяли по Фолчу [3] и фракционировали модифицированным методом [4], позволяющим количественно определить минор-

ные липидные компоненты сыворотки крови одновременно с основными липидными фракциями. Процентное содержание отдельных липидных фракций устанавливали денситометрически [5].

Общие липиды (ОЛ) определяли по Маршу [6]. Изучено относительное и абсолютное содержание следующих фракций липидов: свободного холестерина (СХ), свободных жирных кислот (СЖК), триглицеридов (ТГ), эфиров холестерина (ЭХ), фосфолипидов (ФЛ) и их фракций – суммарных лизофосфолипидов (ЛФЛ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ).

Показатели пациентов проверяли на предмет выявления эмпирических функций их распределения и соответствие этих функций нормальной функции распределения (функция Гаусса). Для этой процедуры применялся критерий согласия Шапиро-Уилка, который используется при небольшом количестве измерений ($n < 50$). Сравнение групп проводили двумя способами: для нормально распределённых показателей применяли t-критерий Стьюдента, а в случае аномальности функций распределения – U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. В результате изучения липидного спектра было установлено, что относительное содержание общих фосфолипидов у больных токсическим гепатитом было в 2 раза ниже, чем у здоровых лиц (табл. 1). Также у больных токсическим гепатитом выявлено почти в 2 раза более высокое относительное содержание свободного холестерина ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями по сравнению со здоровыми лицами.

* фрагмент диссертационной работы

Таблица 1

Липидный состав сыворотки крови у здоровых лиц и больных токсическим гепатитом

Липиды		Показатели липидов (M±m)		P
		здоровые лица (n = 50)	больные токсическим гепатитом (n = 40)	
ФЛ	(в отн. %)	18,4±0,6	11,9±0,2	< 0,001
	(в мг%)	64,9±2,1	143,5±2,4	< 0,001
СХ	(в отн. %)	13,1±0,5	25,7±0,3	< 0,001
	(в мг%)	46,2±1,7	310,1±3,6	< 0,001
СЖК	(в отн. %)	4,6±0,3	2,9±0,1	< 0,001
	(в мг%)	16,2±1,0	34,9±1,2	< 0,001
ТГ	(в отн. %)	24,3±0,9	23,4±0,4	> 0,05
	(в мг%)	85,8±3,1	282,2±4,8	< 0,001
ЭХ	(в отн. %)	39,1±1,0	35,6±0,6	< 0,001
	(в мг%)	138,6±3,5	429,3±7,2	< 0,001

Примечание. Здесь и в табл. 2: P – отличия показателей липидов у больных токсическим гепатитом и здоровых лиц. Сравнение групп проводили с применением t-критерия Стьюдента.

Содержание СЖК у больных токсическим гепатитом было ниже, чем у здоровых лиц. По уровню триглицеридов достоверной разницы между группами здоровых лиц и токсическим гепатитом не было обнаружено ($p > 0,05$). У пациентов с токсическим гепатитом относительное содержание эфиров холестерина также оказалось ниже, чем у здоровых лиц.

Таким образом, выявлены значительные различия в показателях общих липидов при токсическом гепатите и остром вирусном гепатите В.

Сравнение относительного содержания фракций фосфолипидов сыворотки крови (табл. 2) показало, что у больных токсическим гепатитом относительное содержание суммарных лизофосфолипидов было выше, чем у здоровых лиц.

Уровень сфингомиелина у здоровых лиц был ниже, чем у пациентов с токсическим гепатитом ($p < 0,01$). Относительное содержание фосфатидилохолина при токсическом гепатите оказалось самым низким по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,001$).

Таблица 2

Фосфолипидный состав сыворотки крови у здоровых лиц и больных токсическим гепатитом

Фосфолипиды		Показатели фосфолипидов (M±m)		P
		здоровые лица (n = 50)	больные токсическим гепатитом (n = 40)	
ЛФЛ	(в отн. %)	27,5±0,6	31,6±0,5	< 0,001
	(в мг%)	18,2±0,3	45,1±0,7	< 0,001
СМ	(в отн. %)	24,3±0,5	26,2±0,4	< 0,01
	(в мг%)	15,5±0,2	37,4±0,6	< 0,001
ФХ	(в отн. %)	36,5±0,8	31,1±0,4	< 0,001
	(в мг%)	23,5±0,4	44,4±0,6	< 0,001
ФЭ	(в отн. %)	10,4±0,5	10,9±0,3	> 0,05
	(в мг%)	6,6±0,2	15,5±0,4	< 0,001

По уровню фосфатидилэтаноламина достоверной разницы в изучаемых группах не было обнаружено.

Особенности спектра фосфолипидов сыворотки крови у больных токсическим гепатитом по сравнению со здоровыми лицами заключались в более высоком относительном содержании суммарных лизофосфолипидов и сфингомиелина с одной стороны, и более низким уровне фосфатидилхолина с другой.

Содержание ОЛ в сыворотке крови у больных токсическим гепатитом было в 3 раза выше, чем у здоровых лиц и составило ($1206,0 \pm 84,9$ и $353,1 \pm 13,1$ мг% соответственно). Примечательно, что практически у всех больных токсическим гепатитом уровень ОЛ был выше $9,0$ мг%.

Абсолютные значения всех фракций общих липидов и фосфолипидов сыворотки крови у больных токсическим гепатитом были выше, чем у здоровых лиц (табл. 1 и 2).

Коэффициент сходства по данным липидных показателей (отношение достоверно неразличимых по значениям показателей к общему их количеству) между больными токсическим гепатитом и здоровыми лицами оказался очень низким и равен $0,1$.

Столь низкое значение коэффициента сходства по липидному спектру сыворотки крови у здоровых лиц и больных токсическим гепатитом указывает на значительное нарушение метаболизма липидов и, безусловно, является биохимическим проявлением повреждения печени и других внутренних органов.

Значительное превалирование содержания общих липидов в сыворотке крови у больных токсическим гепатитом над аналогичным показателем у здоровых может быть обусловлено усилением липогенеза под воздействием алкоголя.

Низкое относительное содержание СЖК у больных токсическим гепатитом может быть следствием ингибирования их окисления под воздействием продуктов метаболизма суррогатов алкоголя [7].

Существенное преобладание содержания СХ и ЭХ в сыворотке крови у больных с токсическим гепатитом, наиболее вероятно, обусловлено холестазом и, как следствие его, регургитацией данных липидных компонентов желчи в кровь и развивающейся парахолией [8].

Увеличение относительного и абсолютного уровня ЛФХ сыворотки крови у больных с токсическим гепатитом по сравнению со здоровыми может быть результатом активации двух си-

стем. Нарастание содержания ЛФЛ сыворотки может происходить за счёт активации фосфолипазы А₂ [9], которая катализирует гидролиз эфирной связи глицерофосфолипидов в результате чего образуется лизофосфолипиды и свободные жирные кислоты.

Заключение. Продукты бытовой химии, содержащие полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, вызывают у человека развитие токсического гепатита, который сопровождается значительными нарушениями метаболизма липидов.

Больные с токсическим гепатитом отличались от здоровых людей значительно более низким относительным содержанием общих фосфолипидов, СЖК, эфиров холестерина и фосфатидилхолина, но более высоким содержанием свободного холестерина и суммарных лизофосфолипидов. Уровень общих липидов у пациентов с токсическим гепатитом был в 3 раза выше нормы. Отсюда и количественное содержание всех липидных фракций у них было выше по сравнению со здоровыми лицами.

Список литературы

1. **Ивашкин В.Т., Буеверов А.О.** Токсический гепатит вызванный отравлением суррогатами алкоголя // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*, 2007. — № 1. — С. 4-8.
2. **Жолдакова З.И., Одинцов Е.Е., Харчевникова Н.В. и др.** Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид // *Токсикологический вестник*, 2004. — № 6. — С. 35-36.
3. **Folch J., Lees M., Stanley G.H.G.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // *J. biol. Chem.*, 1957. — № 226. — P. 497-509.
4. **Каргаполов А.В.** Анализ липидного состава митохондриальных и эндоплазматических мембран с помощью метода проточной горизонтальной хроматографии // *Биохимия*, 1981. — № 4. — С. 691-698.
5. **Макаров В.К., Каргаполов А.В.** Липидный состав сыворотки крови больных алкоголизмом и хроническим персистирующим гепатитом // *Вопр. мед. химии*, 1987. — № 2. — С. 25-27.
6. **Marsh J.B., Weinstein P.B.** Single charring methods for determination of Lipids // *J. Lip.*, 1966. — № 7. — P. 574-576.
7. **Марри Р., Греннер Д., Мейерс П. и др.** Биохимия человека. Пер. с англ. — М: Медицина; 1993. — Т. 1, разд. II. — С. 111-298.
8. **Дедерер Ю.М., Крылова Н.П., Шойхет Я.Н.** Патогенез, диагностика и лечение механической

желтухи. — Изд-во Красноярского ун-та, 1990. — 108 с.

9. Рахманин Ю.А., Кушнерёва Н.Ф., Булатов А.Е. Состояние липидного обмена у лиц, употреб-

ляющих алкоголь в быту // Гигиена и санитария, 1991. — № 2. — С. 69-70.

Материал поступил в редакцию 17.09.08.

V.K. Makarov, D.S. Ryasenskii

ASSESSMENT OF EFFECTS PRODUCED BY TAKING IN POLYMETHYLENEGUANIDINE HYDROCHLORIDE ON LIPID COMPOSITION OF BLOOD SERUM

All-Russian Scientific Centre for Safety of Biologically Active Substances, Staraya Kupavna, Moscow Region
Tver State Medical Academy

A lipid spectrum of blood serum was studied in 52 healthy persons and in 62 patients suffering from toxic hepatitis caused by taking in alcohol-containing household cleaning products having polymethyleneguanidine hydrochloride in their composition. It was shown that household cleaning products containing polymethyleneguanidine hydrochloride induce toxic hepatitis followed by significant disturbances of lipid metabolism.

УКД 612.014.2.014.46:546.3

А.Р. Гутникова¹, К.О. Махмудов¹, Б.А. Саидханов¹, О.Д. Таджикилова², Н.А. Эргашев²,
М.И. Асраров², И.В. Косникова¹

О МЕМБРАНОТРОПНОМ ДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ОСНОВНЫХ ПУТЯХ ЕГО КОРРЕКЦИИ

¹Республиканский специализированный центр хирургии им. акад. В. Вахидова Минздрава РУз

²Институт физиологии и биофизики АН РУз, Ташкент, Республика Узбекистан

В экспериментах на крысах показано, что основными факторами цитотоксического действия комбинации металлов (медь, марганец, молибден, хром) являются активация ПОЛ и развитие мембранопатологического процесса с нарушением целостности мембранных структур. Курс энтеросорбции пектиновым сорбентом в сочетании с антиоксидантным препаратом «Гепамал» обеспечивает коррекцию последствий токсического воздействия тяжелых металлов.

Ключевые слова: мембранотропное действие, гепамал, соли тяжелых металлов, цитрусовый пектин.

Введение. Среди химических веществ, относящихся к числу глобальных загрязнителей внешней среды, тяжелые металлы образуют особую группу антропогенных токсикантов, во многом определяющих неблагоприятную экологическую обстановку и рост заболеваемости в промышленно развитых районах [11, 14]. Трудности оценки степени риска их воздействия на организм человека связаны с тем, что в реальной жизни приходится сталкиваться с воздействием не одного какого-то токсического вещества, а смеси соединений тяжелых металлов самого различного состава, специфичных для каждого региона, с присущими им синергичными и

антагонистичными свойствами и особенностями взаимодействия [5, 7, 8].

Многочисленными исследованиями показано, что в основе токсического действия соединений тяжелых металлов лежит повреждение клеток, сопровождающееся их структурно-функциональными изменениями, и, прежде всего, нарушением структуры и функции мембран, обусловленное блокированием функционально активных групп белковых ферментов и структурных белков [1, 2, 10, 19-21].

В условиях воздействия экотоксикантов первым органом-мишенью является печень, в которой происходит обезвреживание поступивших в

организм ксенобиотиков, а основным индикатором функционального состояния клеток, наиболее чувствительным к агрессии, можно считать митохондрии [17, 18, 23, 24]. В обычных условиях внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для заряженных частиц, поэтому увеличение их проницаемости для катионов, при которой усиливается их перенос внутрь, служит объективным критерием повреждения митохондрий [9, 12]. С учетом изложенного, необходимо дальнейшее изучение влияния солей тяжелых металлов на мембранные структуры клетки. Это не только расширит знание патогенетических механизмов их патологического действия на организм, но и позволит разработать адекватные методы лечения [15, 22].

Цель исследования: изучить влияние композиционной смеси, состоящей из солей меди, марганца, хрома и молибдена, характерной для зоны воздействия металлургических предприятий Ташкентской области, на способность индуцировать свободно-радикальные процессы, вызывать мембранотропные эффекты и разработать пути коррекции формирующихся нарушений.

Материалы и методы исследований. Исследования выполнены на 40 половозрелых крысах породы Вистар массой 140-150 г, содержащихся в условиях вивария на стандартном пищевом рационе, разделенных на 3 группы. 1-ая группа – соматически здоровые животные, служившие биоконтролем, 2-ая – крысы с субхроническим отравлением металлосодержащей токсической смесью, состоящей из солей меди, марганца, молибдена и хрома в дозе: CuSO_4 – 60 мг/кг, KMnO_4 – 11,2 мг/кг, $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ – 10 мг/кг, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ – 1,19 мг/кг массы тела. Смесь вводили через день внутрибрюшинно на протяжении 4 недель. Соотношение металлов в комбинации соответствовало среднему соотношению в почвах в районе Алмалыкского горно-металлургического комбината. 3-я группа – животные, после моделирования патологического процесса, в течение 3-х недель проходили курс сочетанной энтеросорбционной и антиоксидантной терапии. Энтеросорбцию осуществляли цитрусовым пектином. Сорбент животные получали ежедневно *per os* в дозе 0,5 г на 100 г массы тела животного. В качестве антиоксидантного средства использовали препарат «Гепамал», представляющий собой масляный экстракт из фитосбора, состоящего из цветков бессмертника, пижмы обыкновенной и плодов шиповника, который вводился *per os*

через 3 ч после сорбента один раз в день в дозе 1 мл/100 г массы тела. После завершения курса терапии животных взвешивали, затем умерщвляли мгновенной декапитацией с целью забора крови и ткани печени для дальнейших исследований. Об эффективности проведенного лечения судили по изменению основных показателей ПОЛ, активности трансаминаз в крови и ткани печени и состоянию проницаемости мембран митохондрий печени крыс.

Митохондрии печени крыс выделяли методом дифференциального центрифугирования [13]. Среда выделения содержала: 250 мМ сахара, 10 мМ трис-хлорид, 1 мМ ЭДТА, рН 7,4. Пассивную проницаемость внутренней мембраны митохондрий для различных ионов исследовали методом Брайерли [16] на фотометре ЛМФ-69 путем регистрации изменения оптической плотности суспензии митохондрий при 540 нм. Определяли кинетику набухания дезэнергизованных митохондрий в изотонических растворах нитратов соответствующих катионов, забуференных 10 мМ трис-нитратом, рН 7,4 и содержащих ингибитор дыхательной цепи – ротенон. Для оценки протонной проводимости использовали изотонический раствор нитрата аммония. Содержание белка в суспензии митохондрий определяли колориметрически биуретовым методом. Статистическую достоверность различий определяли по критерию *t* Стьюдента. Каждое значение, представленное в таблице или графически, является средним результатом минимум 15-ти идентичных измерений.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что введение испытуемым животным токсиканта приводит к резкому ухудшению соматического статуса животных. Сопровождается значительным снижением массы тела, в среднем на 30 %, и высокой летальностью, которая достигает 21 %. Как видно из табл., инкорпорация токсической смеси вызывала достоверное изменение всех показателей, характеризующих процессы липопероксидации в сыворотке крови. Так, содержание МДА увеличилось на 40 %. Активность каталазы и антиокислительная активность сыворотки крови, напротив, снизились на 36 и 50 %, соответственно, что указывает на истощение антиоксидантных возможностей организма. Активность основных ферментов цитолиза увеличилась АлАТ – на 44 %, АсАТ – на 33 %. Изменение активности соответствующих ферментов в ткани печени также было выраженным: активность АлАТ возросла на 32 %, активность АсАТ

увеличилась в 1,95 раза. Все выявленные нарушения указывали на развитие синдрома печеночно-клеточной недостаточности. Известно, что повышение активности изучаемых ферментов в сыворотке крови может быть как следствием повреждения гепатоцитов, так и увеличением продукции ферментов тканью печени. При обратимых воспалительных процессах, характеризующихся увеличением проницаемости мембран, высвобождаются прежде всего ферменты цитозоля, т.е. АлАТ. При некротических же состояниях нарастает активность фермента, связанного с митохондриями, а именно, АсАТ. Выявленная нами динамика активности исследуемых ферментов служит косвенным доказательством нарушения целостности мембранных структур гепатоцитов и свидетельствует об истощении функциональных возможностей печени.

В дальнейшем это нашло подтверждение в экспериментах *in vivo* при сравнении пассивной проницаемости внутренней мембраны митохондрий печени крыс разных групп. Как видно на рис. 1-3, введение металлосодержащей смеси индуцирует пассивную проницаемость мембран митохондрий для ионов K^+ , вызывает усиление протонной проницаемости. Индукция потока одновалентных катионов, как правило, должна привести к снижению способности митохондрий к аккумуляции ионов кальция. Действительно, скорость набухания митохондрий в среде, содержащей Ca^{2+} ,

снизилась. Известно, что транспорт протона и иона K^+ через внутреннюю мембрану митохондрий играет важную роль при функционировании системы окислительного фосфорилирования. Нарушение H^+ , K^+ -проницаемости мембран вызывает снижение мембранного потенциала, что, в свою очередь, закономерно приводит к нарушению энергозависимых процессов переноса веществ через мембрану и разобщению дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий, т.е. способствует нарушению их основной функции – функции энергообразования. Изменение проницаемости мембран для ионов K^+ указывает на изменение функции ЦсА-чувствительной поры митохондрий. Для уточнения этого факта, было проведено сравнение состояния ЦсА-чувствительной поры митохондрий, выделенных из печени здоровых и больных животных. Действительно, амплитуда и скорость набухания митохондрий, выделенных из печени животных с субхроническим отравлением, оказалась ниже по сравнению со скоростью набухания митохондрий, выделенных из печени здоровых особей (рис. 4). Следовательно, при отравлении солями тяжелых металлов ЦсА-чувствительная пора переходит в более закрытое конформационное состояние. Выявленные изменения внутренней мембран митохондрий, наблюдающиеся при интоксикации солями тяжелых металлов, вероятно, являются следствием их моди-

Таблица

Изменение основных показателей ПОЛ и ферментов цитолиза при отравлении солями металлов и после проведения курса терапии

Показатель	Контроль	Комбинация металлов P ₁₋₂	Лечение гепамал + пектиновый сорбент P ₂₋₃ , P ₁₋₃
Масса тела, г	155±3	110±4 < 0,01	151±3 < 0,01 > 0,05
МДА, мкмоль/л	2,5±0,02	3,5±0,1 < 0,001	2,22±0,1 < 0,01 > 0,05
АОА, %	31,4±0,8	15,7±0,9 < 0,001	30,8±0,5 < 0,001 > 0,05
Каталаза, усл. ед.	16,2±0,8	10,4±0,7 < 0,01	15,7±2,4 < 0,05 > 0,05
Активность АсАТ, Е/л	194±10,7	258±25 < 0,05	180,2±4,5 < 0,001 > 0,05
Активность АлАТ, Е/л	63,3±2,8	91,0±6,7 < 0,02	50,3±3,4 < 0,02 < 0,05
<i>Активность в ткани печени:</i>			
АсАТ, Е/г	200±27	389±35 < 0,02	267±14 < 0,05 < 0,05
АлАТ, Е/г	300±27	611±30 < 0,05	333±41 < 0,01 > 0,05

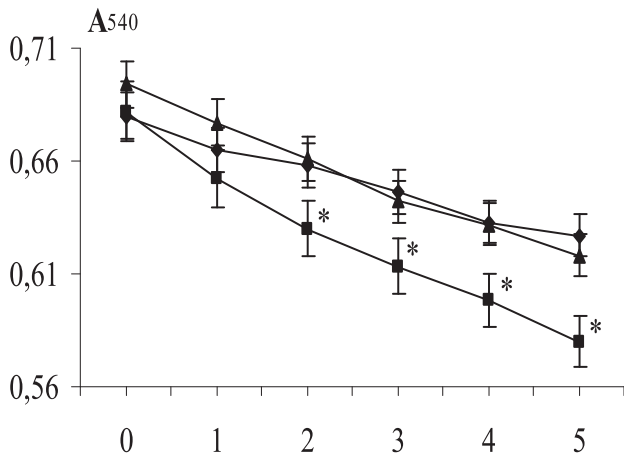


Рис. 1. Кинетика набухания дезэнергизованных митохондрий печени крыс в NH_4NO_3

Здесь и на рис. 2-4: по оси X – время эксперимента, в минутах, по оси Y – величина экстинкции при 540 нм

◆ – здоровые (интактная гр. на рис. 2, 4), ■ – затравка, ▲ – после лечения

* – степень достоверности $p < 0,05$

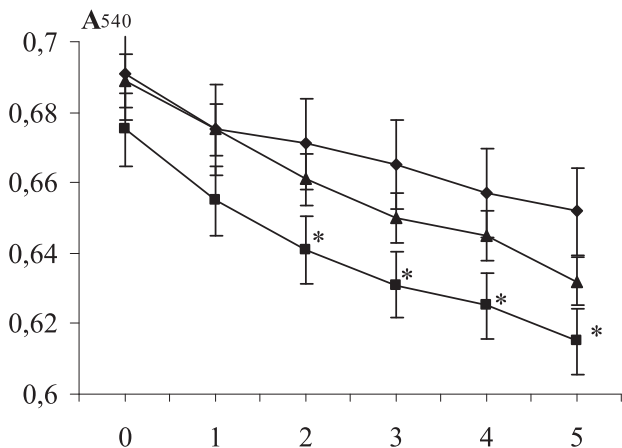


Рис. 2. Кинетика набухания дезэнергизованных митохондрий печени крыс в KNO_3

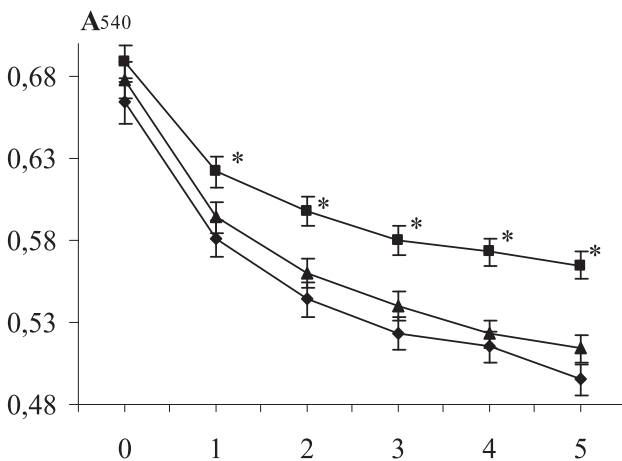


Рис. 3. Кинетика набухания дезэнергизованных митохондрий печени крыс в $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

фикации из-за активации ПОЛ. Именно проокислительная активность солей тяжелых металлов является инициатором выявленных мембранотоксических эффектов.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что в основе механизма токсического действия исследуемой металлосодержащей смеси на организм животных лежит активация процессов липоперекисаации, обуславливающих дальнейшее нарушение барьерных свойств внутренних мембран митохондрий.

С учетом полученных результатов необходимо было подобрать адекватную схему лечения. Очевидно, что в этих условиях патогенетическая терапия должна быть направлена на уменьшение цитотоксических эффектов тяжелых металлов [4]. И добиться этого возможно с помощью комплекса мероприятий, обладающих разными механизмами протекторного действия, способных снизить токсическую нагрузку путем извлечения инкорпорированного токсического агента и в то же время оказать мембраностабилизирующий эффект, прежде всего, с помощью естественных антиоксидантов. С этой целью нами был проведен курс сочетанной терапии, заключавшийся в применении энтеросорбента из цитрусового пектина и «Гепамала», экстракта растительного происхождения обладающего выраженными антиоксидантными свойствами. Пектиновые энтеросорбенты нашли широкое применение в терапии токсических состояний, включая отравления тяжелыми металлами. Они образуют с металлами устойчивые соединения, не абсорбирующиеся в кишечнике, обеспечивают прекращение энтерогепатической циркуляции токсичных веществ и продуктов деструкции гепатоцитов [6].

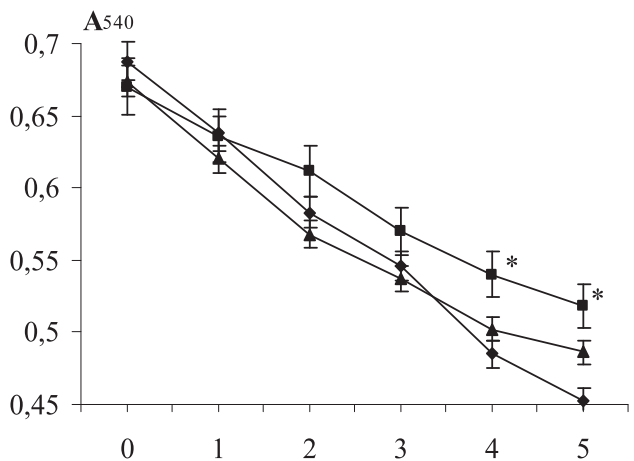


Рис. 4. Кинетика набухания дезэнергизованных митохондрий в среде сахарозы

Сорбционные свойства пектинов в значительной степени зависят от состава и свойств пектиновых веществ (молекулярной массы и степени этерификации) [3, 25]. Нами использован сорбент с молекулярной массой 70 тысяч, степенью этерификации 50% и содержанием карбоксильных групп 0,6%. В результате проведенного лечения значительно улучшился соматический статус животных. Животные не только восстановили активность, но и значительно прибавили в весе, который вернулся в пределы физиологической нормы. Летальность в группе снизилась до 7%.

Активность исследуемых ферментов цитолиза в крови и ткани печени снизилась до уровня интактных величин. Показатели, характеризующие перекисные процессы в сыворотке экспериментальных животных также восстановились в пределах физиологической нормы, т.е. нормализовался антиоксидантный статус животных, что является важным положительным прогностическим признаком, поскольку именно перекисное окисление является одним из основных процессов повреждения внутриклеточных мембранных структур.

Проведенный курс терапии вызвал значительные позитивные изменения и морфофункционального состояния мембран митохондрий. Пассивная проницаемость внутренних мембран митохондрий для одновалентных катионов уменьшилась до уровня интактных величин, в пределах физиологической нормы восстановилась скорость переноса ионов Ca^{2+} . Скорость набухания митохондрий в среде сахарозы достоверно возросла, хотя и оставалась несколько ниже, чем у здоровых животных. Полученные результаты позволяют предположить восстановление функции ЦсА-чувствительной поры и мембранного потенциала.

В результате проведенного лечения отмечается восстановление структуры и функции мембран митохондрий печени, связанное с нормализацией барьерных свойств мембран этих органелл. Эффективность предложенного комплекса терапии обусловлена мембраностабилизирующим эффектом, который достигается как за счет удаления токсического агента, так и путем ингибирования процесса липопероксидации и повышения антиоксидантного статуса организма. Пектиновый энтеросорбент и препарат «Гепамал», используемые для лечения, получены на основе натуральных растительных компонентов, безопасных для организма. Поэтому данный комплекс может быть рекомендован для

коррекции нарушений, обусловленных воздействием солей тяжелых металлов.

Выводы. 1. Основными патогенетическими факторами цитотоксического действия соединений тяжелых металлов являются активация процесса липопероксидации с дисфункцией антиоксидантной системы, обуславливающее последующее развитие мембранопатологического процесса с нарушением целостности мембранных структур.

2. Предложенный комплекс лечения, сочетающий в себе энтеросорбционную детоксикацию с антиоксидантной терапией, основанный на использовании препаратов природного происхождения, оказывает мембраностабилизирующий эффект и обеспечивает коррекцию последствий токсического воздействия тяжелых металлов.

Список литературы

1. **Аксенова М.Е.** Тяжелые металлы: механизмы нефротоксичности // *Нефрология и диализ*, 2000. — Т. 2. — № 1-2.
2. **Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.** Перекисное окисление липидов биологических мембран. — М. Наука, 1972.
3. **Иванов С.Д., Марченко М.В., Матвеев Б.Б. и др.** Гематологические эффекты смеси пектина и альгината натрия при хронической интоксикации кадмием в эксперименте // *Токсикологический вестник*, 2000. — № 6. — С. 24-27
4. **Кацнельсон Б.А., Дегтярева Т.Д., Привалова Л.И. и др.** Торможение комплексом биопротекторных средств общетоксического и тиреотоксического действия комбинации металлов-загрязнителей среды обитания // *Токсикологический вестник*, 2004. — № 2. — С. 23-29.
5. **Кацнельсон Б.А., Макеев О.Г., Дегтярева Т.Д. и др.** Экспериментальное испытание комплекса средств биологической защиты организма от канцерогенного действия комбинации экотоксинов // *Токсикологический вестник*, 2007. — № 3. — С. 15-20.
6. **Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Дегтярева Т.Д. и др.** Коррекция некоторых показателей почечной функции у детей, подвергающихся экологически обусловленной экспозиции к свинцу и кадмию, в результате применения комплекса проотивотоксических биопрепаратов // *Токсикологический вестник*, 2007. — № 6. — С. 11-15.
7. **Кокаева Ф.Ф.** Поведение как критерий поражающего действия техногенного загрязнения среды на организм животных и эффективности мер коррекции // *Автореф. дисс. ... д.б.н.* — М., 2006. — 48 с.

8. Куценко С.А. Основы токсикологии // Российский биомедицинский журнал. Medline.ru, 2003. – Т. 4. – С. 119.
9. Луговской С.П., Легкоступ Л.А. Механизмы биологического действия свинца на пищеварительную систему // Совр. проблемы токсикологии, 2002. – № 2. – С. 45-50.
10. Петров В.В., Подосиновикова П.П., Кубарская Л.Г. и др. Вклад прооксидантного компонента в механизмы токсичности тяжелых металлов и марганца // Токсикологический вестник, 2004. – № 1. – С. 12-15.
11. Пономарева Л.А. Здоровье окружающей среды – основа здоровья всех // М-лы науч.-практ. конф. «Охрана окружающей среды и здоровье человека». – Ташкент, 2003. – С. 18-20.
12. Проданчук Н.Г., Левицкий Е.Л. Приоритетные проблемы токсикологии // Совр. проблемы токсикологии, 2001. – № 4. – С. 85-88.
13. Северин С.Е., Соловьева Г.А. Практикум по биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 403-487.
14. Скачков М.В., Скачкова М.А., Верещагин Н.Н. Механизмы формирования предрасположенности к острым респираторным заболеваниям в регионах с высокой антропогенной нагрузкой // Гиг. и санитария, 2002. – № 5. – С. 39-42.
15. Щелкунов Л.Ф. Механизм сорбции экологически вредных веществ растительными клеточными стенками // Экологія довкілля та безпека життєдіяльності, 2001. – № 4. – С. 83-86.
16. Brierley G.P. Passive permeability and energy-linked ion movements in isolated heart mitochondria // Ann. N.Y. Acad. Sci., 1974. – V. 227. – P. 398-411.
17. Coban T., Beduke Y., Iscan M. In vitro effect of cadmium and nickel on glutation, lipid peroxidation and glutation-S-transferase in human kidneys // Toxicol. in vitro, 1996. – V. 10. – P. 241-245.
18. Fowler B.A. Mechanisms of kidney cell injury from metals // Envir. Health Persp., 1992. – V. 100. – P. 56-63.
19. Gaetke L.M., Chow C.K. Copper toxicity, oxidative stress and antioxidant nutrients // Toxicology, 2003. – V. 189. – P. 147-163.
20. Giri S.N., Hollinger M.A. Effect of cadmium on lung lysosomal enzymes in vitro // Arch. Toxicol., 1995. – V. 69. – № 5. – P. 341-345.
21. Irshad M., Chaudhuri P.S. Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body // Indian. J. Exp. Biol., 2002. – № 40 (11). – P. 1233-1239.
22. Jones A.M. Pectin agent and method of making // Food process ind., 2001. – V. 56. – № 10. – P. 12-15.
23. Lund B.O., Miller D.M. Studies in Hg-induced H₂O₂ production and lipid peroxidation in vitro in rat kidney mitochondria // Biochem. Pharmacol., 1993. – V. 45. – P. 2017-2024.
24. Martel J., Marion M., Denizenu F. Effect of cadmium on membrane potential in isolated rat hepatocytes // Toxicol., 1990. – V. 60. – P. 161-172.
25. Nesterenko V.B., Nesterenko A.V., Babenko V.I. et al. Reducing the ¹³⁷Cs-load in the organism of «Chernobyl» children with apple-pectin // Swiss. Med. Wkly., 2004. – № 1-2. – P. 24-27.

Переработанный вариант статьи
поступил в редакцию 30.03.09.

A.R. Gutnikova¹, K.O. Makhmudov¹, B.A. Saidkhanov¹, O.D. Tadzhikulova²,
N.A. Ergashev², M.I. Asrarov², I.V. Kosnikova¹

ABOUT MEMBRANOTROPIC ACTION OF HEAVY METAL SALTS AND BASIC WAYS OF ITS CORRECTION

¹ Acad. V. Vakhidov Republican Specialized Center for Surgery, Ministry of Health of the Uzbekistan Republic

² Institute of Physiology and Biophysics, Republic of Uzbekistan, Tashkent

In experiments on rats it was shown that major cytotoxic action factors of a combination of metals (copper, manganese, molybdenum, chromium) are activation of lipid peroxidation and development of membranopathologic process with disruption of the structures integrity. The enterosorption by a pectinic sorbent in combination with an anti-oxidative preparation Hepamal provides correction of consequences of heavy metals toxic impact.

УДК 615.9(546.49):616.831

Л.М. Соседова, С.С. Голубев, Е.А. Титов

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В НЕРВНОЙ ТКАНИ И ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СУЛЕМЫ И ПАРОВ МЕТАЛЛИЧЕСКОЙ РТУТИ*Ангарский филиал НИИ медицины труда и экологии человека ГУ «Научный центр медицинской экологии Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН»*

Представлены результаты морфо-функциональных нарушений в нервной ткани и печени при внутрижелудочном введении сулемы и ингаляционном поступлении паров металлической ртути в организм белых крыс. Выявлено, что нейротоксический эффект, оцениваемый по нарушению морфологической структуры нервной ткани и изменению метаболической активности, вызываемый сулемой, менее значим, чем при ингаляционном воздействии паров металлической ртути. Внутрижелудочное введение сулемы способствует более выраженным морфо-функциональным нарушениям в печени.

Ключевые слова: нейротоксичность, сулема, ртуть, морфологический анализ.

Введение. Исследовать патологические процессы токсического повреждения ткани мозга в клинических условиях зачастую неосуществимо. Вследствие чего отсутствуют достаточно ясные представления о нарушениях на клеточном и тканевом уровнях организации. Центральное место в изучении нейроинтоксикаций занимают экспериментальные модели на животных, по результатам которых сформированы основополагающие представления о патогенезе и морфогенезе нарушений ЦНС.

Изучение существа и динамики патологического процесса в ЦНС при интоксикации различными соединениями ртути, который характеризуется значительной вариабельностью по локализации, степени охвата и выраженности нарушений тех или иных структур мозга, механизмам повреждения продолжает оставаться одним из самых актуальных медицинских и нейробиологических направлений [1, 4]. Отравление ртутью и её соединениями (сулема, аммиачная ртуть) встречается среди рабочих предприятия по получению каустической соды, при изготовлении и утилизации ртутных измерительных приборов (термометры, манометры), кварцевых ламп, ртутных лечебных препаратов, а также при работе с некоторыми красителями и при применении ртутьсодержащих мазей [2, 5]. Данная проблема особо актуальна для жителей Иркутской области, так как территория входит в число 17 областей и регионов России, наиболее загрязненных тяжелыми металлами [1]. Проникая в организм в виде соединений, ртуть легко восстанавливается до двухвалентной ртути (Hg^{2+}). Распределение этого металла в организме зависит

от химической формулы ртутного соединения и путей его поступления, что и обуславливает различия поражения ЦНС при воздействии паров ртути и её неорганических соединений [2, 7].

Целью данной работы являлась сравнительная оценка морфологических изменений нервной ткани и ткани печени белых крыс при подостром внутрижелудочном введении сулемы и ингаляционном воздействии парами металлической ртути.

Материал и методы исследования. В эксперименте были использованы 3 группы белых беспородных крыс массой 250–270 г по 8 особей в каждой: 1-я группа животных получила сулему, 2-я – подвергалась ингаляционному воздействию парами металлической ртути, 3-ю группу составили контрольные, интактные животные. Сулему вводили внутрижелудочно, из расчета 0,006 г (по содержанию ртути) на 100 г массы тела, двукратно через 5 дней. Ингаляцию парами ртути осуществляли в 200-литровых затравочных камерах в течении 10 дней по 4 ч. Анализ содержания металла в воздухе затравочной камеры и головном мозге белых крыс проводили на унифицированном приборе «Юлия» (выполнено м.н.с. лаборатории физико-химических исследований О.А. Рычаговой). Концентрация паров ртути в затравочных камерах, в среднем, составляла 0,330 мг/м³. Содержание ртути в гомогенате стволовой части и коре головного мозга составляло соответственно: при воздействии сулемы – 0,023±0,09 мг/кг и 0,013±0,06 мг/кг, при ингаляционном воздействии ртути – 0,020±0,003 мг/кг и 0,011±0,0009 мг/кг. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным

доступом к воде и пище в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986).

На следующий день после второго введения сулемы и окончания ингаляционного воздействия парами металлической ртути животных забивали путем декапитации, быстро извлекали головной мозг и печень. Головной мозг фиксировали в 70 % растворе спирта, печень – в 10 % растворе формалина с последующей заливкой в парафин. Срезы головного мозга и печени окрашивали согласно общепринятым методам: гематоксилин-эозином, по Нисслию, по Ван-Гизону. В нефиксированных срезах, приготовленных в криостате, гистохимически определяли содержание жира, гликогена, активность сукцинадегидрогеназы (СДГ) и щелочной фосфатазы (ЩФ). Активность показателей оценивали полуколичественно, в условных единицах цитохимического индекса. Весь материал исследовали на световых микроскопах Jenaval interphako (Karl Zeiss, Германия) и NEOVAR 2 (REICHERT – Jung, Австрия).

Результаты и обсуждение. Морфологический анализ препаратов головного мозга и печени крыс выявил нарушения, которые имели различную степень выраженности. При воздействии сулемы в ткани головного мозга наблюдался выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отек, подтверждающие данные литературы о способности ионов ртути увеличивать фильтрационное давление и проницаемость сосудов, а также нарушать осморегуляцию клетки (рис. 1) [2, 5, 10]. Введение сулемы вызвало очаговый спонгиоз и дистрофию клеток Пуркинье. Морфологические изменения неокортекса в препаратах нервной ткани характеризова-

лись разрежением слоев коры головного мозга с уменьшением количества нейронов на фоне выраженной пролиферации глии. При воздействии паров металлической ртути также выявлялись периваскулярный и перицеллюлярный отек, нарушение морфологической структуры нейронов коры головного мозга. Вместе с тем, дистрофия нейронов коры головного мозга, в том числе, и ишемическая, пирамидных клеток гиппокампа, клеток Пуркинье была более выраженной в сравнении с воздействием сулемы, равно как и дегенеративные и литические изменения клеток нейроглии. Что касается изучения цитохимических показателей у подопытных животных, следует отметить, что введение сулемы вызвало снижение в нервных клетках активности СДГ и содержания жира с одновременным возрастанием активности ЩФ. Вышеуказанное изменение активности указанных ферментов, по нашему мнению, может свидетельствовать о нарушении окислительных процессов в митохондриях нервных клеток, вследствие токсического влияния изучаемого токсиканта на ферменты цикла Кребса. В свою очередь, при подостром воздействии паров металлической ртути активность ЩФ и СДГ в ткани головного мозга возрастала по сравнению с контролем. В данном случае изменение метаболических реакций в нервной клетке может быть обусловлено нарушением состояния энергетического обмена.

В печени при воздействии сулемы наблюдали умеренный фиброз портальных трактов, полнокровие, а также выход форменных элементов крови в ткань органа, некоторые синусоиды были расширены и заполнены кровью, что свидетельствовало о нарушении проницаемости стенок сосудов. Возможно причиной этого является свойство ртути провоцировать васкулярную утечку, а следовательно быть причиной различ-

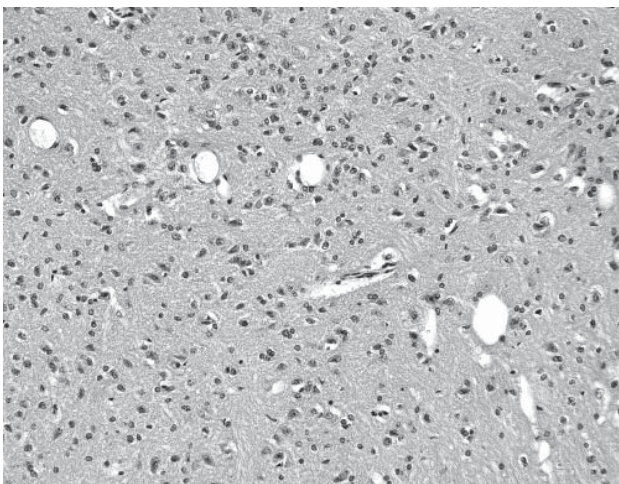


Рис. 1. Головной мозг. Сулема. Умеренный периваскулярный и перицеллюлярный отек. Глиоз. Увелич. $\times 200$, окраска гематоксилин-эозином

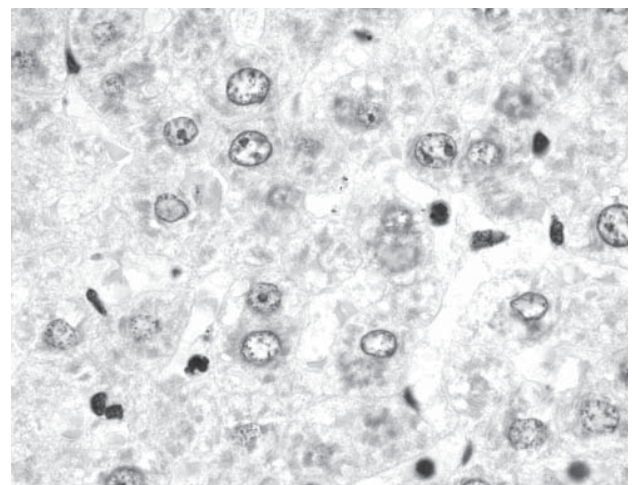


Рис. 2. Печень. Сулема. Выраженное полнокровие. Лейкоцитарная инфильтрация. Увелич. $\times 1000$, окраска гематоксилин-эозином

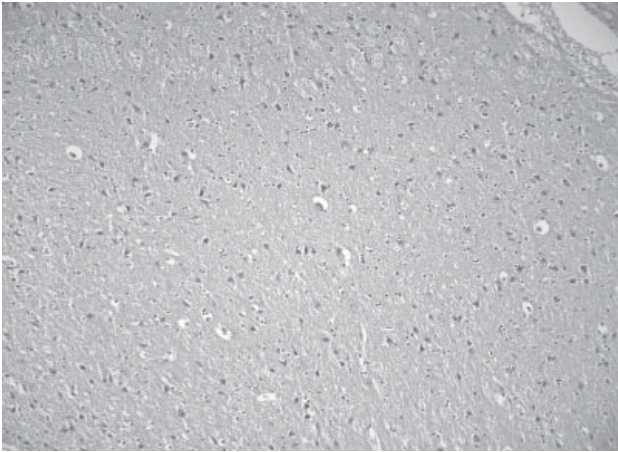


Рис. 3. Ртуть. Дистрофические изменения нейронов и клеток астроглии.

Увелич. $\times 100$, окраска гематоксилин-эозином

ных геморрагических нарушений [10] (рис. 2). Активность СДГ, содержание гликогена и жира в печени животных первой группы не отличались от таковых у крыс контрольной группы. В то же время активность ЩФ была снижена.

При воздействии паров металлической ртути в паренхиме печени животных наблюдали полнокровие и зернистую дистрофию гепатоцитов. При этом активность изучаемых ферментов по сравнению с контрольной группой не изменялась. Вместе с тем выявлены достоверные признаки жировой дистрофии и снижение количества гликогена. Происходящий в печени распад гликогена может оказывать влияние на обеспечение мозга глюкозой, являющейся основным энергетическим субстратом нервной ткани. Определяемое одновременно с этим повышение активности СДГ в ткани мозга свидетельствует, по нашему мнению, о возрастании энергетических потребностей клеток нервной системы при отравлении белых крыс парами металлической ртути.

Полученные результаты эксперимента свидетельствуют о том, что выявленные морфо-функциональные изменения ткани головного мозга крыс имеют не только общие закономерности, но и свои особенности. К таковым можно отнести ярко выраженную пролиферацию элементов астроглии, наблюдаемую при воздействии сулемы. При ингаляционном воздействии ртути, напротив отмечались дистрофические изменения астроглиальных элементов. Аналогичные нарушения отмечали многие отечественные и зарубежные авторы [5, 6, 7, 8, 10]. Известно, что ртуть может накапливаться в астроцитах и нарушать их функцию. Учитывая, что глиальные клетки продуцируют и секретируют трофические факторы для нейронов, их дегенеративные изменения могут приводить к нарушению жизнедеятельности нейронов [9] (рис. 3). Кроме

этого, нарушение проницаемости сосудов и связанный с этим отек нервной ткани, также способствует формированию нейродегенеративных процессов. Это может быть связано с различным путем поступления ртути в организм. Кроме этого химическая форма ртутьсодержащих соединений определяет их реакционную способность и возможность на участие в истинно химических реакциях с биологическими объектами [3]. Так, пары элементной ртути практически полностью поглощаются органами дыхания и после абсорбции в системный кровоток через гематоэнцефалический барьер попадают в нервную ткань. Высокая токсичность сулемы связана с её липофильностью, в связи с чем она практически не диссоциирует на ионы в жидких средах организма. Выявленные нами структурные нарушения в печени имели более выраженный характер при воздействии сулемы, что, возможно, связано также с наличием в её молекуле иона хлора.

Согласно полученным данным, изменения ферментативной активности в нервных клетках и печени, имели дифференцированную направленность в зависимости от особенностей воздействия. Нарушение метаболической активности в митохондриях нервных клеток с изменением процессов аэробного окисления, выявляемые в той или иной степени при воздействии изучаемых соединений ртути, реорганизует ЦНС и может создавать предпосылки для изменения интегративной деятельности нейронов, запуская цепь патологических процессов.

Заключение. Анализ результатов подострого экспериментального воздействия соединениями ртути показал, что при изученных условиях воздействия нейротоксический эффект, оцениваемый по нарушению морфологической структуры нервной ткани и изменению метаболической активности, вызываемый сулемой, менее выражен, чем при ингаляционном воздействии паров металлической ртути. В то же время внутрижелудочное введение сулемы способствует более значимым морфо-функциональным нарушениям в паренхиме печени.

Список литературы

1. **Краснопеева И.Ю.** Ртутная интоксикация // *Сибирский медицинский журнал*, 2005. — № 7. — С. 104-108.
2. **Курляндский Б.А. Филов В.А.** Общая токсикология. — М.: Медицина, 2002. — 607 с.
3. **Осипова В.П., Пименов Ю.Т., Берберова Н.Т.** Ингибирующее действие ртутьорганических соединений на процессы клеточного и митохондриального дыхания // *Токсикологический вестник*, 1999. — № 1. — С. 21-26.
4. **Плетнева Т.В.** Токсикологическая химия. — М.: Изд. группа «ГЭОТАР-Медиа», 2005. — 509 с.

5. **Талакин Ю.Н.** Ранние проявления воздействия на организм низких концентраций свинца, ртути, марганца (к проблеме патогенеза, диагностики и профилактики микроинтоксикаций тяжёлыми металлами). Автореф. дис. д.м.н. — Киев, 1979.

6. **Трахтенберг И.М., Коришун М.Н.** Ртуть и её соединения в окружающей среде. — Киев: Выща Школа, 1990. — 230 с.

7. **Ето К., Takizawa Y., Akagi H.** Differential Diagnosis between Organic and Inorganic Mercury Poisoning in Human Cases — The pathologic Point of View // *Toxicological Pathology*, 1999. — V. 27. — № 6. — P. 664-671.

8. **Lewandowski T.A., Ponce R.A., Charleston Y.S., et al.** Effect of Methyl mercury on Midbrain Cell Pro-

liferation during Organogenesis: Potential Cross-species Differences and Implications for Risk Assessment // *Toxicological Sciences*, 2003. — V. 75. — № 1. — P. 124-133.

9. **Ronuback L., Hansson E.** Chronic Encefalopathies induced by Mercury of Lead: Aspects of Underlying Cellular and Molecular Mechanisms // *British Journal of Industrial Medicine*, 1992. — V. 49. — P. 233-240

10. **Stoev S., Lazarova S.** Morphological Investigations in Experimental Cases of Mercury Poisoning in Sheep // *Veterinarski Archiv*, 1998. — V. 68. — № 5. — P. 163-171.

Материал поступил в редакцию 17.05.08.

L.M. Sosedova, S.S. Golubev, Ye.A. Titov

COMPARATIVE EVALUATION OF MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN WHITE RATS NEURAL TISSUE AND LIVER AT EXPOSURE TO MERCURY-DICHLORIDE (SULEMA) SUBLIMATE AND METAL MERCURY VAPORS

Angarsk Branch, Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Scientific Center for Medical Ecology, East-Siberian Scientific Center of the Russian Academy of Medical Sciences

Results are presented on morphofunctional changes in white rats neural tissue and liver at intragastric exposure to mercury-dichloride (sulema) and at inhalation intake of metal mercury vapors. It was revealed that the neurotoxic effect evaluated on the basis of disturbances of the morphologic structure in neural tissue and changes in the metabolic activity induced by mercury-dichloride is less significant than at the inhalation exposure to metallic mercury vapors. The intragastric administration of mercury-dichloride promotes more expressed morphofunctional disturbances in liver.

УДК 543.3: 577.4

Л.М. Обухова*, М.Е. Безруков

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ОТХОДОВ МЕТОДОМ КЛИНОВИДНОЙ ДЕГИДРАТАЦИИ

*Нижегородская государственная медицинская академия
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского*

Для оценки степени токсичности водных отходов был применен метод клиновидной дегидратации, с использованием в качестве тест-объекта 10% раствора сывороточного альбумина. Выявлена линейная зависимость общего количества аномальных особенностей в его структурном макропортрете от концентрации и токсичности добавляемого раствора и проб водных отходов: чем выше токсичность, тем больше наблюдаемое количество особенностей. Сходимость результатов, полученных при использовании разработанной модификации метода клиновидной дегидратации, выше, чем при биологическом тестировании с использованием *Ceriodaphnia affinis*.

Ключевые слова: токсичность, водные отходы, метод клиновидной дегидратации, сывороточный альбумин.

Введение. Проблемы загрязнения окружающей среды требуют разработки и реализации эффективных методов контроля токсичности водных сред. В последнее время в медицине и биологии все шире применяется метод клино-

видной дегидратации [7]. Основное преимущество данного метода состоит в том, что он предоставляет интегральную информацию не только о концентрации, но и о характере взаимосвязи всех элементов, составляющих биологическую жидкость. Его авторы выделяют особенности структурного макропортрета биологических

* фрагмент диссертационной работы

жидкостей, наличие которых характерно для интоксикации [8].

Целью данной работы стала разработка модификации метода клиновидной дегидратации для определения токсичности водных отходов.

Материал и методы исследования. Были изучены водные растворы, содержащие различные концентрации FeSO_4 , CuSO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$; водные отходы различных классов опасности (35 образцов). В качестве тест-объекта при разработке методики применяли стандартизированный 10% раствор человеческого сывороточного альбумина 2005, 2006, 2007 гг. выпуска, свежеприготовленный 10% водный раствор лиофилизированного сывороточного бычьего альбумина. Исследование проводили методом клиновидной дегидратации [7]. Для оценки структурного макропортрета и перевода наблюдаемых параметров в численную форму была разработана таблица; выраженность признаков оценивали по десятибалльной шкале. Параллельно класс опасности водных сред определяли с использованием цериодафний (*Ceriodaphnia affinis*), применение которых утверждено органами Госстандарта РФ (ФР.1.39.2001.00282) [5].

Результаты и обсуждение. Была проведена исследовательская работа по определению оптимального объемного соотношения исследуемой жидкости к 10% раствору альбумина в анализируемой пробе. В качестве контроля была использована нетоксичная культивационная вода. Изучались высокотоксичные (по результатам биологического тестирования по показателю безвредной кратности разбавления вод [БКР₁₀ = 92,00]) водные хозяйственно-бытовые стоки после очистных сооружений. В ходе экспериментальной разработки способа были изучены объемные соотношения 1:1, 1:2; 1:3; 1:5; 1:10; 1:50; 1:100; 2:1; 3:1; 5:1; 10:1.

Наиболее информативными были результаты, полученные с применением 10% раствора сывороточного альбумина в соотношении 2:1 к исследуемой жидкости. При наличии в исследуемой жидкости токсических веществ, в высохшей капле смеси наблюдали аномальные особенности в виде штриховых, параллельных, концентрических, многолучевых, круглых трещин, трещин в виде черной сети, в виде рыбьей чешуи, морщин, линий Валнера и языков Арнольда (рис. 1).

Для сравнения воздействия разных концентраций химических веществ на параметры структурного макропортрета раствора альбумина были использованы модельные растворы FeSO_4 , CuSO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

Выявлена линейная зависимость общего количества особенностей в дегидратированной

капле от концентрации растворённого вещества. При увеличении содержания действующего вещества в растворе менялся характер особенностей. При малых концентрациях FeSO_4 (10, 20, 30 мг/л), CuSO_4 (0,06, 0,07, 0,08 мг/л), $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (0,2 мг/л) в высохшей капле альбумина присутствовали только штриховые трещины. При концентрациях FeSO_4 (40, 50 мг/л), CuSO_4 (0,09, 0,1, 0,15 мг/л) и $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (0,5, 1,0, 1,5, 2 мг/л) к ним добавлялись параллельные трещины.

Параллельно проводили биологическое тестирование с использованием ракообразных *Ceriodaphnia affinis*. При помощи программного пакета «Statistica» была проведена обработка результатов двух методов. Коэффициент корреляции по Пирсону между результатами (процент гибели) биотестирования и количеством особенностей в структурном макропортрете водных сред с добавлением альбумина составил 0,33 при вероятности $p = 0,048$, что свидетельствует о достоверной связи между двумя этими показателями. Сравнение результатов клиновидной дегидратации и биотестирования выявило, что коэффициент аппроксимации для результатов биотестирования существенно ниже, чем при клиновидной дегидратации, что свидетельствует о более высокой сходимости результатов кристаллооптического метода.

При исследовании факта изменения структуры макропортрета раствора альбумина важным было определить факт биологического (токсического) проявления веществ, а не воздействие их валовой концентрации. С этой целью при воздействии на раствор альбумина использовали одну и ту же концентрацию (1,0 мг/л) солей металлов.

При одинаковых концентрациях, применение сульфата меди давало большее количество особенностей (рис. 2), что объясняется его большей токсичностью, подтвержденной результатами биотестирования.

Таким образом, выявлено, что увеличение общего количества особенностей в структурном макропортрете альбумина связано с токсическим проявлением солей металлов при их влиянии на *Ceriodaphnia affinis*.

Поскольку по степени экотоксичности водные отходы принято подразделять по классам опасности [4], нами была проведена оценка параметров структурного макропортрета раствора альбумина при воздействии токсикантов, подразделенных таким образом. Класс отходов определялся по результатам биотестирования с определением БКР и ЛКР.

Было выявлено, что количество особенностей в структурном макропортрете раствора аль-

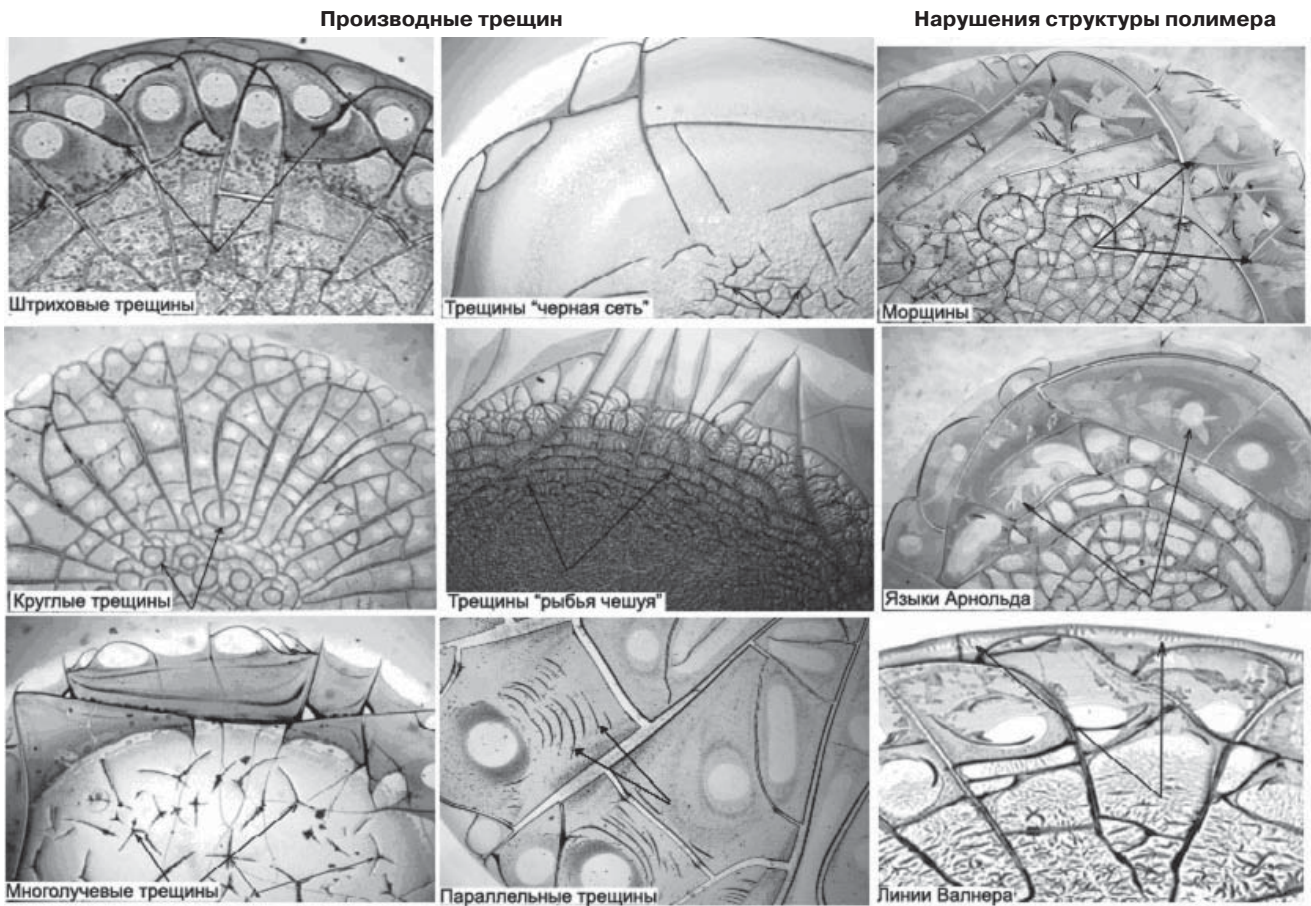


Рис. 1. Аномальные особенности структурного макропортрета биологических жидкостей. Увеличение 2×10

бумина при воздействии водных отходов различных классов опасности отличаются достоверно (рис. 3, 4), причем обнаружен линейный характер этой зависимости (рис. 5).

Причем, если при воздействии водных отходов 5-го класса опасности в высохшей капле раствора альбумина наблюдали только штри-

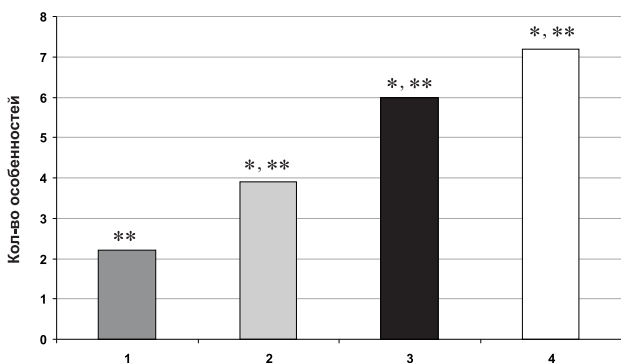


Рис. 2. Количество особенностей в структурном макропортрете 10% р-ра сывороточного человеческого альбумина выпуска 2007 г. с добавлением в объемном соотношении 2:1: 1 – H₂O (контроль); 2 – р-ра сульфата железа 1 мг/л; 3 – р-ра бихромата калия 1 мг/л; 4 – р-ра сульфата меди 1 мг/л

* – различия с контролем достоверны (p < 0,05); ** – различия между пробами достоверны (p < 0,05) (критерий Ньюмана-Кейсла)

ховые трещины, то для 4-го класса свойственно сочетание штриховых и параллельных трещин. При значительной токсичности отходов (1-ый и 2-ой класс) особенности наблюдались не только в краевой зоне, но и в центральной (рис. 4).

Одна из важнейших функций альбуминов – транспортная. Альбумины способны связывать любые гидрофобные и амфифильные лиганды малой молекулярной массы (до 1000 Д) [3]. По

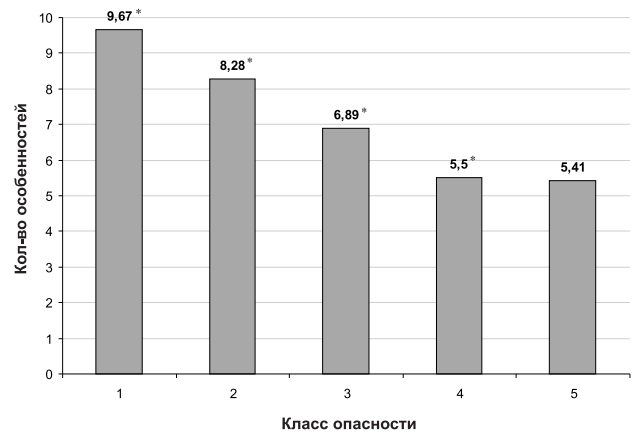


Рис. 3. Зависимость количества особенностей в структурном макропортрете 10% р-ра альбумина от класса опасности добавленных водных отходов

* – различия достоверны (p < 0,05)

изменению конформации сывороточного человеческого альбумина, определяемой соотношением его общей и эффективной концентрации, диагностируют эндогенную интоксикацию организма [2].

Ранее было доказано, что количество, форма и расположение трещин в дегидратированной капле раствора белка отражают особенности его структурной конформации [1], а появление патологических особенностей вызвано окислительной модификацией белков [6]. Учитывая вышеперечисленное, можно предположить, что выявленное увеличение числа аномальных особенностей в структурном макропортрете 10% раствора альбумина обусловлено их окислительной модификацией под воздействием токсичных веществ. Причем, чем значительнее токсическое воздействие, тем более выражена окислительная модификация белка, что проявляется в увеличении аномальных особенностей его структурного макропортрета.

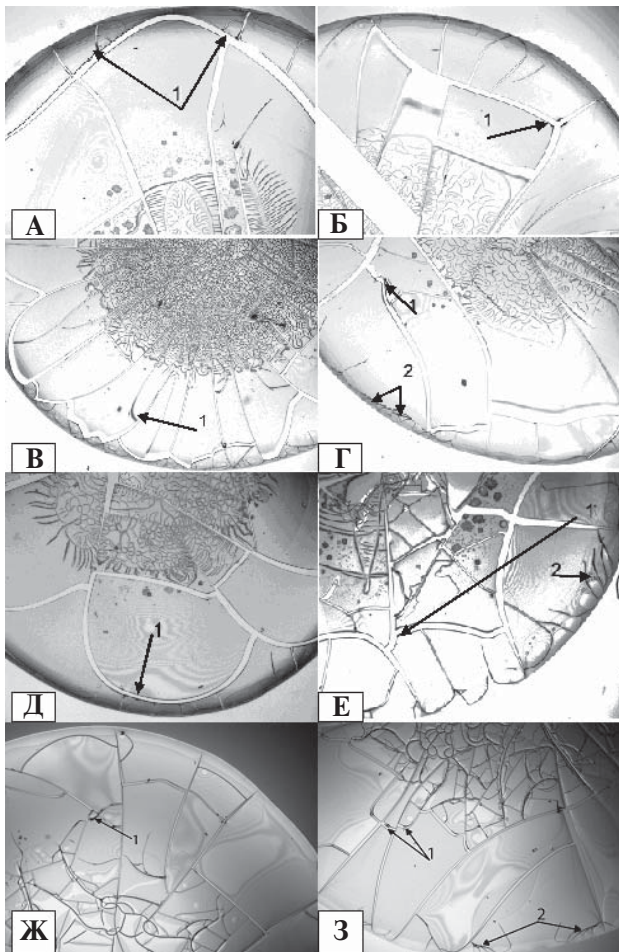


Рис. 4. Структурный макропортрет 10% раствора альбумина при добавлении в соотношении 2:1: H₂O (А); водных отходов 5 класса опасности – наименее токсичных (Б); 4 класса опасности (В); 3 класса опасности (Г); 2 класса опасности (Д); 1 класса опасности – наиболее токсичных (Е) (увеличение 2×10)

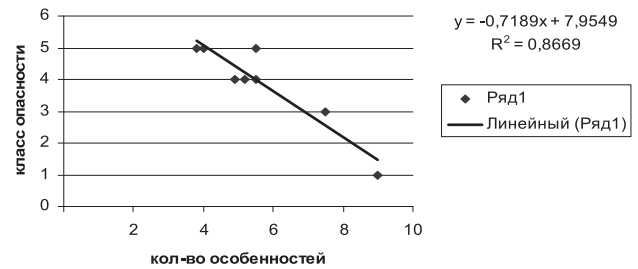


Рис. 5. Графическое выражение линейной зависимости количества особенностей в структурном макропортрете 10% р-ра альбумина от класса опасности добавленных водных отходов

Выводы. 1. Разработана модификация методики клиновидной дегидратации для определения степени токсичности водных отходов.

2. Выявлена высокая степень зависимости общего количества аномальных особенностей в структурном макропортрете раствора альбумина от концентрации в нем растворённого вещества.

3. Увеличение количества аномальных особенностей в структурном макропортрете раствора альбумина связано с биологической (токсической) активностью растворённых веществ.

4. Под влиянием водных отходов различных классов опасности выявлено достоверно различающееся количество особенностей в структурном макропортрете раствора альбумина: чем более токсична исследуемая проба, тем выше наблюдаемое количество особенностей.

5. Сходимость результатов разработанной модификации метода клиновидной дегидратации выше, чем при биологическом тестировании с использованием *Ceriodaphnia affinis*.

Список литературы

1. Белова Л.М. Морфофизиологический анализ биологически активных продуктов пчелиной семьи: Дисс. канд. биол. наук. – Нижний Новгород, 2002. – 167 с.

2. Гаврилов В.Б., Бидула М.М., Фурманчук Д.А. Снижение эффективной концентрации альбумина как индикатор дисбаланса между накоплением и связыванием токсинов в плазме крови при эндогенной интоксикации // Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. – М: Ириус, 1998. – С. 132-139.

3. Добрецов Г.Е., Миллер Ю.И. Биохимия и физико-химия сывороточного альбумина // Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. – М: Ириус, 1994. – С. 13-26.

4. «Критерии отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды», утверждённые в соответствии с приказом МПР России от 15 июня 2001 г. № 511.

5. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод,

отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. ФР. 1.39.2001.00282. — М.: Акварос, 2001. — 52 с.

6. **Обухова Л.М., Ведунова М.В., Конторщикова К.Н. и др.** Морфофизиологический анализ плазмы крови при эндогенной интоксикации // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*, 2007. — № 6. — С. 104-107.

7. **Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.** Аутогенные ритмы и самоорганизация биологических жидкостей // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 1996. — Т. 122. — № 10. — С. 364-371.

8. **Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.** Морфология биологических жидкостей человека. — М.: Хризостом, 2001. — 304 с.

Материал поступил в редакцию 25.09.08.

L.M. Obukhova, M.Y. Bezrukov

ASSESSMENT OF WASTES TOXICITY USING THE WEDGE-LIKE DEHYDRATION METHOD

*State Medical Academy of Nizhni Novgorod
N.I. Lobachevskii State University of Nizhni Novgorod*

To evaluate toxicity of aquatic wastes, a method of wedge-like dehydration was applied using a 10 % solution of serum albumin as a test-object. A linear dependence was found out between a total of abnormal particularities in its structural macro pattern and concentration and toxicity of the added solution and samples of aquatic waste: the higher toxicity, the larger amount of observed particularities. The convergence of the results received with the use of the developed modification of wedge-like dehydration is higher than at biological testing using *Ceriodaphnia affinis*.

УДК 614.72:613.63

Р.А. Сулейманов, Т.К. Валеев*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПО ГИГИЕНИЧЕСКОМУ НОРМИРОВАНИЮ АГИДОЛА-21 В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

ФГУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» Роспотребнадзора

По результатам экспериментов на лабораторных животных и наблюдениях на волонтерах обоснованы величины ПДК агидола-21 в атмосферном воздухе населенных мест: максимальная разовая — 0,5 мг/м³ и среднесуточная — 0,3 мг/м³. Лимитирующий показатель — резорбтивное действие, класс опасности — 3.

Ключевые слова: токсичность, экспериментальные исследования, лабораторные животные, агидол-21.

Введение. Для придания горюче-смазочным материалам, моющим средствам и многим химическим товарам улучшенных эксплуатационных показателей (минимальная коррозионная активность, максимальная устойчивость к окислению, стандартная вязкость и др.) к ним в небольшом количестве добавляются особые компоненты — стабилизаторы и присадки. В настоящее время широко распространены алкилфенольные стабилизаторы и присадки, получаемые на основе фенола. К одной из эффективных и широко применяемых групп алкилфенольных соединений относятся так называемые вещества — агидолы.

Изучаемое нами химическое вещество — 2-трет-бутил-4-гексилфенол (агидол-21) относится к классу алкилфенолов и представляет собой вязкую медообразную жидкость от янтарного до коричневого цвета с ароматическим запахом, не растворяется в воде, растворяется в этаноле, толуоле. Эмпирическая формула: C₁₆H₂₆O. Молекулярная масса — 234,4. Техническое название — агидол-21. Гигиенический регламент в атмосферном воздухе для данного вещества отсутствует.

Целью настоящей работы явилось обоснование предельно-допустимой концентрации агидола-21 в атмосферном воздухе населенных мест.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили согласно требованиям методи-

* фрагмент диссертационной работы

Время наступления достоверных токсических эффектов в зависимости от уровня концентрации

Показатель биологического действия	Концентрация агидола-21, мг/м ³	Время наступления эффекта, часы
Суммационно-пороговый показатель (СПП)	150	34
	50	150
	20	200
	10	400
Поведенческие реакции: «норковый рефлекс»	150	39
	50	92
	20	350
	10	390
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)	150	19
	50	62
	20	110
	10	250
Аланинаминотрансфераза (АЛТ)	150	42
	50	130
	20	500
	10	590

ческих указаний [1]. Для определения вещества в воздухе использовали утвержденный в установленном порядке химический метод, принцип которого – улавливание агидола-21 из воздуха поглотителем, наполненным толуолом, в который внесен раствор пара-бромфенола, используемый в качестве внутреннего стандарта, с последующим определением на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором после хроматографического разделения на капиллярной колонке. Расчет средних концентраций за период хронического эксперимента проводили на основе построения кумулятивных кривых.

Ингаляционное воздействие агидола-21 на животных осуществляли в 200-литровых камерах с нижним диффузором, через который проводили отсос воздуха. Воздух подавался в камеру, проходя через силикогельный поглотитель. Для отбора проб в камеру вмонтирован штуцер на уровне зоны дыхания. Камера для контрольных животных находилась в отдельной комнате. Проведение болезненных процедур и декапитацию экспериментальных животных осуществляли с соблюдением требований к процедуре эвтаназии [2].

Исследование хронического действия вещества проведено на белых беспородных крысах-самцах с массой тела 200–210 г. Длительность круглосуточной ингаляционной экспозиции составила 3 мес с последующим периодом наблюдения в течение 1-го мес. При оценке функционального состояния целостного организма бы-

ли использованы следующие показатели: общее состояние, масса тела, спонтанная двигательная активность, суммационно-пороговый показатель (СПП), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), сульфгидрильная (SH) группа, холестерин, общий белок, количество лейкоцитов, эритроцитов, содержание гемоглобина, масса внутренних органов. Исследования по определению отдаленных эффектов проведены в соответствии с МУ [5]. Достоверность результатов исследований учитывали по критерию t-Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Изучение рефлекторного действия вещества выполнено с участием 20 волонтеров в возрасте от 24 до 53 лет (мужчины и женщины). При определении порога обонятельного ощущения исследовали 7 концентраций вещества. Каждая концентрация была предъявлена волонтерам по три-четыре раза. Обработку экспериментальных данных проводили методом пробит-анализа [1, 7]. В результате установлено, что вещество обладает слабым ароматическим запахом, порог обонятельного ощущения определен на уровне 3,1 мг/м³, угол наклона прямой составил 35°, класс опасности – 4, коэффициент запаса – 1,8. ПДК 20-минутного периода осреднения агидола-21 обоснована на уровне 1,72 мг/м³.

В остром эксперименте при пероральном введении экспериментальным животным (мы-

Таблица 2

**Основные токсикометрические параметры агидола-21,
установленные на основе зависимости «концентрация-время»**

Показатель	Угол наклона прямой «концентрация-время», градусы	Параметры токсичности и опасности			
		класс опасности	порог хронического действия, мг/м ³	коэффициент запаса	недействующие концентрации, мг/м ³
СПП	137	3	1,5	5	0,3
Норковый рефлекс	140	3	1,3	6	0,22
АЛТ	132	3	2,6	8	0,32
ЛДГ	129	3	1,8	10	0,18

Таблица 3

**Параметры токсичности и опасности агидола-21, установленные
по различным методическим схемам нормирования загрязнителей атмосферы**

Показатель	Класс опасности		Порог хронического действия мг/м ³		Коэффициент запаса		Недействующие концентрации, мг/м ³		Рекомендуемые уровни ПДК _{сс}	
	хронич.	краткоср.	хронич.	краткоср.	хронич.	краткоср.	хронич.	краткоср.	хронич.	краткоср.
Норковый рефлекс		3	1,52	1,3		6	0,3	0,22		
СПП		3	1,52	1,5		5	0,3	0,3		
АЛТ		3	1,52	2,6		8	0,3	0,32		
ЛДГ		3	1,52	1,8		10	0,3	0,18		0,2
АСТ			1,52				0,3			
Интегральный показатель опасности «В»	3				5,3				0,29	

ши) продукта в виде 50 % суспензии в растительном масле определена среднесмертельная доза на уровне 1050 (766,9 ÷ 1396,5) мг/кг, что позволило отнести агидол-21 к 3-му классу опасности (умеренно опасные вещества). Определенная методом одной точки величина среднесмертельной дозы продукта составила 1010 мг/кг для крыс и 675 мг/кг – для мышей, что свидетельствует об отсутствии различий в видовой и половой чувствительности к продукту.

Среднесмертельную концентрацию вещества определить не удалось, так как при создании в ингаляционной камере максимально достижимой концентрации при 4-х часовом ингаляционном воздействии, гибель животных в течение всего периода наблюдения отсутствовала. Порог острого действия агидола-21 определен на уровне 357,4 мг/м³.

При исследованиях местного раздражающего действия и кожно-резорбтивных свойств, выполненных в соответствии с МУ [3], установлено, что продукт обладает выраженным раздражающим действием и способностью проникать через неповрежденную кожу. Кумулятивные свойства продукта определены как слабо выраженные ($C_{cum} = 9,6$). При изучении аллергенных

свойств согласно МУ [4] установлено, что изучаемое вещество не способствует аллергии организма.

В ходе проведения хронического 3-х месячного эксперимента изучено воздействие 4-х концентраций агидола-21, фактические уровни которых составили: 9,84, 4,92, 1,52 и 0,30 мг/м³. При ингаляционном воздействии на крыс максимальной концентрации – 9,84 мг/м³, были отмечены изменения функционального состояния животных. Так, через 1 мес после начала эксперимента СПП, показатели поведенческих реакций статистически достоверно изменяются и не приходят в норму до конца эксперимента. Количество лейкоцитов у животных опытной группы к концу эксперимента уменьшилось, а затем восстановилось. Количество эритроцитов достоверно снижается к концу эксперимента, однако эта величина находится в пределах физиологических колебаний. Исследование активности ферментов выявило стойкое возрастание активности АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ, SH-групп. Можно полагать, что в данном случае повышение активности ферментов в сыворотке крови является следствием повреждения клеточных мембран, которое сопровождается выходом в кровь цито-

плазматических ферментов. При определении массы внутренних органов достоверных изменений не выявлено.

При экспозиции животных в концентрации $4,92 \text{ мг/м}^3$ проявления интоксикации подобны таковым, как и при действии агидола-21 в первой концентрации, но они носили менее выраженный характер: происходили статистически достоверные изменения двигательной активности, «норкового» рефлекса, СПП. Гематологические изменения характеризуются увеличением количества гемоглобина, биохимические — сдвигами в показателях функционального состояния печени.

Хроническое поступление препарата в концентрации $1,52 \text{ мг/м}^3$ в организм подопытных животных вызвало небольшие отклонения в поведении, увеличение активности ферментов, но эти изменения носили обратимый характер.

При ингаляционном воздействии вещества в концентрации $0,30 \text{ мг/м}^3$ проявлений интоксикации и изменений функционального состояния организма у подопытных животных не отмечено. Это дает основание считать, что исследуемое вещество в этой концентрации не оказывает отрицательного влияния на организм, а концентрацию $1,52 \text{ мг/м}^3$ можно принять за пороговую.

При проведении исследований по определению отдаленных эффектов установлено, что изучаемое вещество не обладает гонадотоксическим и эмбриотоксическим действием. Также не выявлено мутагенного влияния вещества.

В результате обработки и анализа полученного материала в ходе проведения хронического эксперимента установлено: интегральный показатель «В» составил $0,47$, что позволило отнести агидол-21 к 3-му классу опасности. Среднесуточная ПДК с учетом коэффициента запаса ($5,3$) составила — $1,29 \text{ мг/м}^3$. Так как агидол-21 является веществом, обладающим преимущественно резорбтивным действием, максимальная разовая ПДК определялась на уровне 98% вероятности ее проявления в хроническом эксперименте и составила $0,48 \text{ мг/м}^3$.

Для подтверждения экспериментально установленных пороговой и подпороговой концентраций, в ходе хронического воздействия вещества, нами была использована методическая схема — «концентрация-время-эффект», предложенная М.А. Пинигиным [6], в основе которой лежит установление зависимости времени наступления токсических эффектов, при непродолжительном воздействии на организм лабораторных животных высоких, средних и низких концентраций вещества.

Эксперимент проводили на белых крысах-самцах с исходной массой $120\text{--}140 \text{ г}$. Животные

были разделены на 4 контрольных и 4 опытных групп по 20 особей в каждой. Крысы содержали в камерах в аналогичных условиях как и при хронической затравке. Длительность непрерывного ингаляционного воздействия в заданных концентрациях вещества ($150, 50, 20$ и 10 мг/м^3) составила от 19 до 590 ч. Оценка функционального состояния животных проведена при изучении наиболее чувствительных показателей, характерных для токсикодинамики вещества — состояние центральной нервной системы (СПП, «норковый рефлекс»), биохимические показатели крови (ЛДГ, АЛТ). Время наступления достоверных токсических эффектов в зависимости от уровня концентрации представлены в табл. 1.

В результате проведения эксперимента и графической обработке полученных данных на двойной логарифмической сетке были установлены основные токсикометрические параметры, результаты которых представлены в табл. 2. Наименьший порог хронического действия составил $1,3 \text{ мг/м}^3$, недеятельная концентрация (с учетом коэффициента запаса) — $0,22 \text{ мг/м}^3$, класс опасности — 3.

Уровни пороговых концентраций по определяемым показателям в краткосрочном эксперименте близки с пороговыми концентрациями, определенными в ходе проведения хронического 3-х месячного эксперимента. Так, уровень пороговой концентрации по СПП в краткосрочном эксперименте составил $1,5 \text{ мг/м}^3$, а в хроническом — $1,52 \text{ мг/м}^3$, АЛТ — $2,6$ и $1,52 \text{ мг/м}^3$, ЛДГ — $1,8$ и $1,52 \text{ мг/м}^3$, «норковый рефлекс» — $1,3$ и $1,52 \text{ мг/м}^3$ (табл. 3).

Заключение. Неблагоприятные последствия при воздействии агидола-21 на организм теплокровных животных выражаются влиянием на центральную нервную систему (СПП, поведенческие реакции) и печень (увеличение ферментативной активности) и, по-видимому, являются следствием общетоксического действия продукта. Проведенные исследования позволяют отнести изучаемый продукт к веществам, обладающим преимущественно резорбтивным действием.

Рекомендуемый нами уровень среднесуточной ПДК агидола-21 в атмосферном воздухе населенных мест — $0,3 \text{ мг/м}^3$, максимальной разовой — $0,5 \text{ мг/м}^3$. Лимитирующий показатель резорбтивное действие. Класс опасности 3-й (умеренно опасное вещество).

Список литературы

1. *Временные методические указания по обоснованию ПДК загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест.* — М., 1989.
2. *Куфлина С.А., Павлова Т.Н. Этаназия экспериментальных животных: Метод. рекомендации.* — М., 1985.

3. Методические указания к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию ПДК избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны. № 2196-80. — М., 1980.

4. Методические указания к постановке исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздушной среде (рабочая зона и атмосфера). — М., 1991.

5. Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных

ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования (Методические указания). № 1744-77. — М., 1978.

6. Пинигин М.А. Биологическая эквивалентность в решении методических задач гигиенического регламентирования атмосферных загрязнений: Автореф. дис. д-ра наук. — М., 1977.

7. Сидоренко Г.И., Андреевцева Н.Т. // Материалы научных исследований по гигиене атмосферного воздуха, гигиене воды и санитарной охраны водоемов. — М., 1972. — Ч. 1. — С. 100-106.

Материал поступил в редакцию 09.09.08.

R.A. Suleimanov, T.K. Valeyev

EXPERIMENTAL DATA ON THE HYGIENIC REGULATION OF AGIDOL-21 IN THE ATMOSPHERIC AIR OF RESIDENTIAL SETTINGS

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology

Basing on the results of experiments in laboratory animals and observations of volunteers, the values of MACs of Agidol-21 in the atmospheric air of residential settings were substantiated as follows: maximum single dose 0.5 mg/m³, daily average dose 0.3 mg/m³; limiting indicator- absorptive action; hazard class — 3.

УДК 614.878

Т.Ю. Жармухамедова, О.Н. Хохлова, Т.А. Гуськова, А.Н. Мурашев

ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И НАНОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ В СООТВЕТСТВИИ С ПРАВИЛАМИ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ

Филиал Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино, Московская обл.

Организация, занимающаяся изучением безопасности химических веществ, биотехнологических и нанотехнологических продуктов в соответствии с правилами GLP (надлежащая лабораторная практика), должна иметь службу обеспечения качества, которая назначается менеджментом из числа сотрудников, не участвующих в исследованиях, и призванная проводить независимую оценку полноты соблюдения требований GLP. Служба обеспечения качества должна быть знакома с процедурами проведения исследований и подотчетна непосредственно руководству исследовательской организации.

Ключевые слова: исследовательская организация, служба обеспечения качества, аудит, правила надлежащей лабораторной практики.

Нормативные правила надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice — GLP) были созданы для обеспечения качества и достоверности экспериментальных данных в исследованиях безопасности химических соединений, биологических и нанотехнологических продуктов. Правила GLP представляют собой

концепцию управления исследованиями, охватывающую процесс организации, подготовки и проведения исследования, контроль выполнения процедур, получение и документирование данных и составление отчета. Соблюдение правил GLP обязательно при выполнении исследований, требуемых национальными регуляторными

ми агентствами для установления безопасности химических и др. соединений в отношении человека и окружающей среды. Впервые правила GLP законодательно были определены в США (21 CFR Part 58 «Good Laboratory Practice Regulations for Non-clinical Laboratory Studies») [4] и в последующем сформулированы в руководстве Организации экономического сотрудничества и развития (Organization of Economic Cooperation and Development – OECD [3]. В Российской Федерации правила GLP изложены в приложении к приказу № 267 от 19.06.2003 Министерства здравоохранения [9]. Следование правилам GLP в исследовательском учреждении обеспечивается выполнением Программы учреждения по обеспечению качества («OECD Principles of Good Laboratory Practice», Section 1.2.2(8)) [3], а также контролем со стороны руководства и независимым аудитом [2, 8, 9].

Цель данной статьи – описать программу обеспечения качества исследовательского учреждения при проведении исследований безопасности.

За выполнение программы обеспечения качества отвечает специальная служба обеспечения качества (СОК), созданная руководством исследовательской организации из числа сотрудников, не участвующих в экспериментах. Для малых организаций допускается совмещение обязанностей аудитора с другими обязанностями сотрудника, однако, при соблюдении условия независимости аудитора (аудитор не принимает участия в инспектируемом исследовании) [1]. Сотрудники СОК подотчетны непосредственно руководству исследовательской организации [6, 7]. В обязанности СОК входит [1]:

- иметь у себя все копии утвержденных протоколов исследования и действующих стандартных операционных процедур (СОП), а также обновляемый график проводимых исследований
- проверять протоколы исследований на предмет наличия информации, требуемой правилами GLP
- инспектировать соответствие проводимых исследований требованиям GLP, утвержденному протоколу и СОП
- проводить общие инспекции учреждения, не связанные с конкретным исследованием, на предмет соответствия оборудования, технологических процедур, компьютерных систем, помещений, квалификации персонала требованиям GLP
- проводить инспекции тех конкретных процедур или процессов, которые не были проверены во время запланированных инспекций исследования

- инспектировать итоговый отчет для подтверждения того, что использованные методы, процедуры, измерения и наблюдения описаны точно, и отчет аккуратно и полно отражает полученные данные

- участвовать в проведении внешних инспекций исследовательского учреждения со стороны регуляторных органов или заказчика исследования

- документировать проведение инспекций

- своевременно составлять отчеты с результатами инспекции и подавать их руководству исследовательского учреждения, руководителю исследования и ответственным исполнителям (в организациях-соисполнителях) для быстрого информирования о любых выявленных отклонениях от протокола, СОП или правил GLP

- составлять итоговое заключение о проверке исследования, которое является приложением к итоговому отчету по исследованию, с перечислением проверенных этапов исследования, дат проверок и дат передачи результатов инспекций руководству исследовательской организации и руководителю исследования, а также подтверждением того, что отчет полностью отражает все полученные данные

- периодически передавать всю документацию, связанную с работой службы обеспечения качества в архив исследовательского учреждения.

В соответствии с правилами GLP все методы, процедуры, манипуляции, выполняемые в исследовательской организации при проведении испытаний, должны быть описаны в утвержденных документах – «стандартных операционных процедурах» (СОП). Наличие программы СОП является необходимым для обеспечения высокого качества получения экспериментальных данных. Все процедуры, связанные с деятельностью СОК, включая проведение инспекций, документирование и составление отчетов, должны быть также описаны в соответствующих СОП. Кроме того, обязанности сотрудников СОК должны быть определены в письменной форме, также как и для всего персонала исследовательского учреждения. Руководство исследовательского учреждения отвечает за соответствие квалификации сотрудников СОК выполняемым обязанностям и дальнейшее повышение квалификации. Сотрудник СОК должен быть формально знаком с выполняемыми процедурами и методиками, знать нормативные требования GLP. Обучение и повышение квалификации сотрудников СОК документируется и прикладывается в папку личного дела.

Проверку исследования начинают с аудита протокола исследования. Убеждаются, что протокол содержит всю информацию, необходимую для соответствия правилам GLP, а также что все используемые методики описаны в соответствующих СОП или в самом протоколе. Проверяют, все ли сотрудники, которые будут выполнять те или иные процедуры, прошли соответствующее обучение, и об этом имеются записи в их личном деле. Необходимо удостовериться в правильности оформления поправок к протоколу, если они имеются. По результатам проверки оформляется отчет, который передается руководству организации и руководителю исследования.

Во время проведения исследования проводятся инспекции «критических фаз»: например, подготовка тестируемых веществ, проверка их концентрации и стабильности, получение и подготовка тест-систем, введение тестируемых веществ в тест-системы, выполнение процедур получения первичных данных, по заранее спланированному расписанию инспекций, которое зависит от длительности исследования. При выполнении исследований, продолжительность которых составляет несколько месяцев, инспекции «критических фаз» проводятся, по меньшей мере, один раз в месяц. При краткосрочных исследованиях все «критические фазы» инспектируются во время их осуществления согласно протоколу и хронологии его выполнения. Кроме этого, выполняются периодические аудиты первичных данных через определенные интервалы времени для подтверждения того, что все получаемые данные, запланированные в протоколе, регистрируются должным образом, и соответствующие записи ведутся регулярно и четко.

Перед проверкой отчета по исследованию необходимо перечитать протокол, определить, какой процент данных подлежит проверке, сопоставить их с первичными данными и протоколом. Проверить правильность документации первичных данных: записи должны быть выполнены надлежащим образом, несмысленными чернилами, датированы и подписаны. Просмотреть все поправки и записи отклонений от протокола: отразились ли они на регистрации первичных данных. Проверить, что таблицы и графики содержат всю информацию, необходимую для их интерпретации. Необходимо убедиться, что все первичные данные отражены в результатах, полученные результаты обсуждаются, и выводы обоснованы. Проверить отчет с точки зрения логики изложения и орфографии, наличия элементов, требуемых правилами GLP. В обязанности СОК не входит проверка научной интер-

претации данных отчета. Отчет о проведенной проверке с результатами и обнаруженными отклонениями направляется руководителю исследования и руководителю организации. К отчету необходимо приложить датированное и подписанное заключение СОК о результатах инспекции проведенного исследования. Заключение подписывается только после устранения недостатков, обнаруженных при проверке отчета, что должно быть документально подтверждено после повторного аудита.

Перед проведением рутинных инспекций, не связанных с конкретным исследованием, инспектор СОК изучает соответствующие СОП, личные дела сотрудников и отчеты о предыдущих инспекциях. Во время инспекций следует убедиться, что помещения и процедуры соответствуют регулирующим положениям и требованиям проводимых исследований. Особое внимание обращается на устранение недостатков, обнаруженных во время предыдущих инспекций. Рутинным инспекциям подлежат [5]:

- программа СОП: соответствие формату, принятому в исследовательской организации, полнота программы СОП

- получение животных и их размещение: статус здоровья животных, последовательность действий при их приеме, документирование процедур с животными, санитарная обработка помещений содержания животных и санитарное состояние оборудования в них, условия окружающей среды (давление, температура, влажность, световой цикл)

- хранение корма, подстила, вспомогательных материалов: наличие поддонов для хранения корма и подстила, срок годности корма, наличие сертификатов на корм, результаты периодической проверки воды, корма и подстила на контаминацию

- чистота клеток содержания животных: правильность выполнения процедуры мытья, работа моечного оборудования, документирование моечного цикла, средства для мытья, санитарное состояние моечной, хранение чистых клеток, стеллажей и вспомогательных материалов

- работа провизоров: состояние и калибровка оборудования, используемого в провизорской комнате, документация получения и расходования тестируемых и контрольных веществ, выполнение анализов стабильности, концентрации и стабильность веществ для введения, документация расчетов и приготовления доз для введения

- лабораторные помещения: санитарное состояние помещений, состояние оборудования, наличие СОП на оборудование и журналов с за-

писями профилактических работ и калибровки приборов, правильность маркировки реагентов и наличие просроченных реактивов, обращение с отходами

- оборудование: чистка, профилактика, тестирование, калибровка оборудования, документирование перечисленных процедур с указанием даты, используемого СОП и ответственного лица, документирование процедур, связанных с полочками прибора; валидация компьютеризированных систем

- архив: процедуры архивирования и выдачи архивных материалов, безопасность хранения документов, ограниченный доступ в архив, условия хранения бумажной документации, патоморфологических и гистологических материалов.

После каждой инспекции по исследованию или рутинной инспекции инспектор составляет отчет, в котором указывает объект проверки («критическая фаза» исследования, помещение, оборудование, процедура, документация) и перечисляет обнаруженные отклонения от протокола, СОП, правил GLP с рекомендациями по их устранению и сроками ответных действий. Датированный и подписанный отчет передается руководителю организации и руководителю исследования (для инспекций по исследованию). Эффективность устранения обнаруженных отклонений и недостатков зависит от комплексных скоординированных действий руководства организации, руководителя исследования и всех сотрудников, участвующих в исследованиях. Спустя установленное время инспектор проводит повторную проверку, чтобы выявить эффективность ответных мер по устранению недостатков.

Заключение. Службе обеспечения качества в проводимых исследованиях по химической и биологической безопасности отводится ведущая

роль в обеспечении выполнения правил GLP, протокола исследования и стандартных операционных процедур, что служит гарантией достоверности полученных экспериментальных данных.

Список литературы

1. *GLP Consensus Document: Quality Assurance and GLP. OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring. № 4. ENV/JM/MONO(99)20. Paris, 1999.*

2. *Murashev A.N. // OECD/Russia Federation workshop on «Biosecurity of microbial resources – complementing innovation». 20–21 September 2006. Moscow. – P. 20.*

3. *OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997). OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring № 1. ENV/MC/CHEM(98)17. Paris, 1998.*

4. *U.S. FDA Good Laboratory Practice (GLP) Regulations for Non-clinical Laboratory Studies (21 CFR Part 58).*

5. *Заргарова Т.А. и др. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – С. 28-41.*

6. *Мурашев А.Н. // Материалы Первой междунар. конф. «Биологические и медицинские технологии: от научных результатов – к инновационным разработкам». 3–4 марта 2005, Москва.*

7. *Мурашев А.Н. // III съезд фармакологов России. Санкт-Петербург, 23–27 сентября 2007.*

8. *Мурашев А.Н. и др. // Ведомости НЦ ЭСМП, 2007. – № 2. – С. 71-79.*

9. *Правила лабораторной практики в Российской Федерации. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 № 267.*

Материал поступил в редакцию 09.12.08.

T.Yu. Zharmukhamedova, O.N. Khokhlova, T.A. Guskova, A.N. Murashev

SECURING THE QUALITY OF STUDIES ON SAFETY OF CHEMICALS, BIOTECHNOLOGICAL, NANOTECHNOLOGICAL PRODUCTS IN COMPLIANCE WITH THE PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE (GLP)

Branch of the Academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Research Institute of Bioorganic Chemistry, Settlement Pushchino, Moscow Region

Organizations dealing with studies of safety of chemicals, biotechnological, nanotechnological products in accordance with the principles of Good Laboratory Practice should comprise a service for securing quality and consisting of the personnel not involved in investigations and appointed by the management. This service is to be entrusted with independent assessment of the completeness of meeting the GLP principles. The quality control service must be familiar with investigation procedures and be directly accountable to the management of the research organization.

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

УДК 615.9 (092 Курляндский)

БОРИС АРОНОВИЧ КУРЛЯНДСКИЙ (к 80-летию со дня рождения)

02 июня 2009 г. исполнилось 80 лет со дня рождения, 65 лет трудовой и 55 лет научно-практической деятельности члену-корреспонденту РАМН, профессору **Борису Ароновичу Курляндскому**.

Трудовую деятельность Б.А. Курляндский начал в феврале 1943 г. в должности электрика на оборонном предприятии № 691 в Москве. После окончания в 1953 г. санитарно-гигиенического факультета 1 Московского ордена Ленина медицинского института работает в должности главного врача (начальника) СЭС-2, а затем ДорСЭС Карагандинской ж.д. в г. Акмолинске (Казахская ССР). С 1957 по 1960 г. проходит аспирантуру при кафедре промышленной гигиены ЦИУ(в), по окончании которой работает до 1962 г. младшим научным сотрудником НИИ гигиены детей и подростков АМН СССР. Поскольку руководство института не поддержало создание научного направления «подростковая токсикология», возглавил создание и в течение 16 лет работу первой в системе государственного санитарного надзора токсикологической лаборатории МосгорСЭС, положив начало созданию аналогичных лабораторий санитарной службы страны.

В 1978 г. избран заведующим, организованной при его участии, лабораторией 7-3 (гигиены и токсикологии) МНПО «НИОПИК», а с 1992 г. и по сей день директор впервые созданного в России специализированного учреждения ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора.

Кандидатскую диссертацию Б.А. Курляндский защитил в 1962 г., докторскую в 1971 г. В 1987 г. ему присвоено ученое звание профессора, в 2004 г. избран членом-корреспондентом РАМН по специальности «санитарная токсикология».

Основные исследования Б.А. Курляндского посвящены теоретическим и прикладным проблемам общей и профилактической токсикологии. Круг научных интересов Б.А. Курляндского



широк и разнообразен. Им детально разработана концепция смены фаз реактивности организма при длительном воздействии химических веществ.

Впервые показана зависимость скорости и частоты возникновения злокачественных новообразований различной природы, индуцированных в различные фазы предшествующей интоксикации от времени индуцирования. Под руководством и при участии Б.А. Курляндского проведены исследования влияния токсикантов на энергетические процессы в клетке, обмен нуклеиновых кислот, катехоламинов, выявлена зависимость токсических свойств гетероциклических углеводов от их изомерии. Б.А. Курляндскому принадлежат фундаментальные и прикладные исследования по токсикологии органических красителей и полупродуктов, что позволило впервые в гигиенической практике перейти от их индивидуального к групповому регламентированию, основанному на общности механизмов токсического действия.

Большое место в исследованиях Б.А. Курляндского уделено изучению канцерогенных свойств веществ и количественной оценке канцерогенной опасности таких соединений как бензидин, дианизидин, винилхлорид и др. Им впервые была разработана количественная классификация опасности химических канцерогенов и предложена оригинальная методика их гигиенического нормирования.

С 1992 г. основные исследования Б.А. Курляндского направлены на создание и научное обоснование системы государственной регистрации потенциально опасных химических и биологических веществ. Под его руководством и при участии созданы информационно-поисковая система «Токсикология АКП», а также автоматизированная распределенная информационно-поисковая система (АРИПС), обеспечивающая информацией об опасных веществах органы здравоохранения, Роспотребнадзора и другие заинтересованные организации. Проведенные ис-

следования позволили впервые провести обобщенный прогноз потенциальной опасности химических веществ на территории России в зависимости от их производства и обращения.

Б.А. Курляндский автор 462 работ, в том числе 3 монографий, фундаментального руководства «Общая токсикология», учебника, 2-х многотомных справочников, авторского свидетельства.

Под руководством и при консультативном участии Б.А. Курляндского выполнено и защищено 13 кандидатских и 4 докторских диссертации. Он член Экспертного совета ВАК РФ.

Им создана научная школа, отличительной особенностью которой является сочетание глубоких теоретических исследований с практической направленностью.

Б.А. Курляндский является инициатором создания в 1993 г. и бессменным гл. редактором журнала «Токсикологический вестник». Многие годы возглавляет правление Российской общественной организации токсикологов (Российское токсикологическое общество).

Значительное место в работе Б.А. Курляндского занимает международная деятельность. На протяжении 15 последних лет он представ-

лял Российскую Федерацию на заседаниях межправительственных переговорных комитетов по созданию Стокгольмской и Роттердамской конвенций. С 1998 г. он член Постоянного комитета, а с 2002 г. по 2005 г. избранный вице-президент V Межправительственного форума по химической безопасности от стран региона Центральной и Восточной Европы. В течение 5 лет Б.А. Курляндский является членом Комитета по химическим веществам Роттердамской конвенции. Трижды за последние 3 г. он возглавлял делегацию Российской Федерации на заседаниях Комитета ЮНЕП-ФАО-ВОЗ по разработке международной стратегии химической безопасности.

Б.А. Курляндский – ветеран ВОВ, награжден двумя орденами и шестью медалями СССР и России. Отмечен золотой медалью ВДНХ СССР.

Президиум РАМН, Минздравсоцразвития России, Роспотребнадзор, Правление Всероссийской общественной организации токсикологов, редколлегия журнала «Токсикологический вестник», друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Бориса Ароновича Курляндского с юбилеем и желают ему новых творческих успехов, здоровья, долгих и счастливых лет жизни.

УДК 615.9 (092 Коршун)

МИХАИЛ НИКОЛАЕВИЧ КОРШУН (к 70-летию со дня рождения)

24 марта 2009 г. исполнилось 70 лет со дня рождения и 45 лет врачебной и научно-педагогической деятельности одного из последователей научной школы токсикологов СССР и Украины **Михаила Николаевича Коршуна** – ведущего научного сотрудника Комитета по вопросам гигиенического регламентирования МЗ Украины, старшего научного сотрудника лаборатории промышленной токсикологии и гигиены труда при использовании химических веществ ГУ «Институт медицины труда АМН Украины», лауреата Государственной премии Украины в области науки и техники.

После окончания в 1962 г. с отличием санитарно-гигиенического факультета Киевского медицинского института им. акад. А.А. Богомольца М.Н. Коршун работал в Житомирской области в качестве врача-эпидемиолога, а затем в качестве сотрудника кафедры гигиены труда этого института. Здесь он сочетает работу ассистента с научно-исследовательской деятельностью и в 1969 г. успешно защищает кандидатскую диссертацию на тему «Гигиеническое значение вторичного загрязнения ртутью воздуха производственных и лабораторных помещений (к проблеме профилактики меркуриализма)»,

публикует ряд статей по этой проблеме в ведущих научных журналах.

В дальнейшем на протяжении 24 лет он работает старшим научным сотрудником токсикологической лаборатории Киевского научно-исследовательского филиала ГОСНИИХЛОПРО-ЕКТа Минхимпрома СССР, где особое внимание уделяет экспериментально-токсикологическим и производственно-гигиеническим исследованиям по проблеме ртутной опасности. Совместно с И.М. Трахтенбергом им была подготовлена вышедшая в 1992 г. монография «Ртуть и ее соединения в окружающей среде (гигиенические и экологические аспекты)», удостоенная в 1996 г. академической премии по профилактической медицине АМН Украины. Кроме того, были подготовлены обстоятельные обзоры по токсикологии органических (1993) и неорганических (1998) соединений ртути, изданные под эгидой МРПТХВ и ЮНЕП.

С 1996 г. Михаил Николаевич работает в Комитете по вопросам гигиенического регламентирования МЗ Украины. Именно там оказались затребованы его глубокие знания и широкая эрудиция.

М.Н. Коршун является автором более 200 научных работ по проблемам химической безопас-

ности, профилактической токсикологии, медицинской экологии, в частности, в 1997 г. издано методическое пособие «Гигиена труда и производственная санитария», в котором М.Н. Коршун написал обстоятельный раздел, касающийся обоснования безопасных уровней воздействия потенциально опасных химических веществ, основ токсикологии, принципов гигиенического нормирования вредных веществ.

Одной из особенностей научной деятельности Михаила Николаевича является органическое сочетание разработки теоретических аспектов токсикологии с работами прикладной гигиенической направленности. Им были научно аргументированы ПДК неорганических соединений ртути в воздухе рабочей зоны, установлены допустимые уровни многих хлорорганических соединений в атмосферном воздухе и воде, обоснованы принципы и подходы к дальнейшему совершенствованию системы обоснования ПДК химических веществ, разработаны законодательные требования и регламентации в области профилактики интоксикаций вредными веществами, вошедшие в санитарное законодательство.

Как заместитель председателя Комиссии по установлению ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны, Михаил Николаевич проводит большую организационную и методическую работу по вопросам установления нормативов допустимого содержания вредных веществ в условиях производства.

Традиции активной творческой деятельности на поприще науки Михаил Николаевич передал своим одаренным дочерям. Одна из них — Мария Коршун является его прямой научной наследницей — исследователем в области профилактики вредного действия потенциально опасных химических веществ, педагогом высшей медицинской школы, доктором наук, профессором кафедры коммунальной гигиены Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца. Вторая — Ольга, кандидат биологических наук, специализируется в области аналитической химии пестицидов.

В среде коллег, разрабатывающих проблемы химической безопасности, Михаил Николаевич Коршун пользуется заслуженным признанием и глубоким уважением. Его характеризуют замечательные человеческие качества — доброжелательность, чуткость, готовность поддержать и помочь сотрудникам. Работающие с ним отмечают его высокую творческую работоспособность, обязательность, широкую эрудицию, инициативу, неординарное мышление.

Пожелаем юбиляру новых свершений, доброго здоровья, счастья, дальнейших успехов.

**Коллектив Комитета по вопросам гигиенического регламентирования МЗ Украины
Сотрудники ГУ «Институт медицины труда АМН Украины»
Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»**

НЕКРОЛОГ

УДК 615.9 (095 Корбакова)

КОРБАКОВА АЛЕКСАНДРА ИВАНОВНА (28.08.1925–01.04.2009)

1 апреля 2009 г. после продолжительной болезни ушла из жизни доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации **Александра Ивановна Корбакова**.

После окончания в 1949 г. 1-го Московского медицинского института А.И. Корбакова поступила в аспирантуру при НИИ гигиены труда и профза-



болеваний АМН СССР (ныне НИИ медицины труда РАМН), где трудилась до 2005 г.

Под руководством одного из основоположников отечественной промышленной токсикологии проф. Н.С. Правдина А.И. Корбакова защитила в 1954 г. кандидатскую диссертацию.

После окончания аспирантуры А.И. Корбакова работала

сначала младшим, а с 1961 г. старшим научным сотрудником в лаборатории промышленной токсикологии. В 1969 г. А.И. Корбакова защитила диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук и с 1974 по 1983 гг. — возглавляла научно-организационный отдел института. В 1976 г. решением Президиума ВАК СССР А.И. Корбакова была удостоена ученого звания профессора.

Высокая квалификация, большой опыт организационной работы позволили ей успешно выполнять функции Ученого секретаря Проблемной комиссии «Научные основы гигиены труда и профпатологии» АМН СССР, координировавшей научные исследования более 120 научно-исследовательских организаций страны, работавших по проблеме.

С 1983 по 1992 гг. А.И. Корбакова — заместитель директора института по научной работе.

А.И. Корбакова является одним из ведущих отечественных токсикологов. Ею опубликовано более 150 научных работ по вопросам токсикологии новых промышленных химических веществ, патогенеза интоксикаций, зависимости токсичности и метаболизма от химической структуры вещества, в том числе монография «Токсикология фторорганических соединений и гигиена труда в их производстве» (1975).

Выполненные ею исследования позволили разработать вопросы патогенеза, предложить методы патогенетической терапии и профилактики интоксикаций ряда перспективных промышленных соединений.

Проф. А.И. Корбакова проявила себя как крупный организатор науки, внесший существенный вклад в развитие промышленной токсикологии и гигиены труда, формирование методологических основ для обоснования санитарно-гигиенических требований к охране здоровья работников промышленных предприятий, разработку и совершенствование государственного санитарно-эпидемиологического нормирования. С ее участием было подготовлено и утверждено несколько сотен нормативных и методических документов по вопросам гигиенического нормирования химических веществ в воздухе рабо-

чей зоны, в том числе первая и вторая редакции Руководства Р.2.2.755-99 «Гигиенические критерии оценки и классификация условий труда по показателям вредности и опасности факторов производственной среды, тяжести и напряженности трудового процесса». Результаты научных исследований А.И. Корбаковой нашли широкое внедрение в практику, что способствовало оздоровлению условий труда промышленных рабочих.

А.И. Корбакова была зам. председателя подкомиссии проблемной комиссии № 1 «Научные основы медицины труда» Научного совета РАМН и Минздравсоцразвития России «Медико-экологические проблемы здоровья работающих», одним из главных экспертов Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Роспотребнадзора России.

А.И. Корбакова большое внимание уделяла подготовке высококвалифицированных кадров, под ее руководством выполнено и защищено более 10-ти кандидатских и 2-е докторские диссертации. На протяжении 25 лет она была членом экспертного Совета ВАК, где выполняла большую работу по аттестации научных кадров и экспертизе научно-исследовательских работ, защищенных на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук по специальности «Гигиена труда».

А.И. Корбакова имеет правительственные награды, в 1986 г. награждена орденом «Дружбы народов». В 1994 г. ей присвоено звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

Коллеги по работе, ученики и друзья, все кому довелось работать с Александрой Ивановной и близко знать её, глубоко скорбят о её кончине и навсегда сохраняют о ней светлую память.

Правление Всероссийской общественной организации токсикологов

ГУ НИИ медицины труда РАМН

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

Редакционная коллегия журнала «Токсикологический вестник»



БЮЛЛЕТЕНЬ

Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 613.488

М.А. Пинигин, Л.А. Тепикина, А.А. Сафиулин,
З.В. Шипулина, Н.Н. Беляева, З.И. Каганова,
А.Г. Мальшева, Н.Ю. Козлова, Т.Г. Ламентова,
Н.В. Лебедева, А.К. Маковецкая, Е.Н. Игнатова
*ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей
среды им. А.Н. Сысина РАМН, Москва*

СИНТЕТИЧЕСКИЕ МОЮЩИЕ СРЕДСТВА «АРИЕЛЬ», «ТАЙД», «МИФ-УНИВЕРСАЛ»

СМС «Ариель», «Тайд», «Миф-Универсал» являются сложными смесями, в состав которых входят поверхностно-активные вещества (ПАВ) и различные добавки, улучшающие пенообразование, предотвращающие осаждение на ткань снятых загрязнений (карбоксиметилцеллюлоза, силикат натрия), повышающие моющую способность ПАВ и смягчающие воду (кальцинированная сода, триполифосфат натрия и др.), придающие моющему раствору приятный запах, отбеливающие вещества (отдушки, оптический отбеливатель, перборат натрия) и др. (табл. 1).

Ольфакторное действие СМС «Ариель», «Тайд», «Миф-Универсал» изучали с привлечением 14 волонтеров на основе разработанного экспериментально-расчетного метода [1], основанного на установленной корреляционной связи запаха веществ в атмосферном воздухе с их запахом в воде. Концентрации СМС (мг/м³) в атмосферном воздухе, не вызывающие запаха, составили: СМС «Ариель» – 0,74, СМС «Тайд» – 0,57; СМС «Миф-Универсал» – 0,57.

DL₅₀ (в/ж, мг/кг массы) для крыс самцов – СМС «Ариель» – 4415, «Тайд» – 4365, «Миф-Универсал» – 6375 (4-ый класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76). Коэффициент кумуляции всех СМС больше 5 (метод Lim et al., крысы самцы и самки).

СМС «Ариель» слабо раздражает слизистые оболочки глаз кроликов и кожу морских свинок.

Однократное 4-часовое ингаляционное воздействие СМС на беспородных белых крыс-самцов осуществляли в 200-литровых камерах В.Б. Латушкиной в модификации З.М. Камальдиновой и И.В. Саноцкого в концентраци-

ях (мг/м³): СМС «Ариель» – 20, 50, 117, «Тайд» – 25, 58, 111, «Миф-Универсал» – 24, 53, 105.

Величины Lim_{ac} составляли: СМС «Ариель» – 50, «Тайд» – 58, «Миф Универсал» – 53 мг/м³ (по влиянию на нервную систему, изменение активности малатдегидрогеназы, N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы, глюкозо-6-фосфатазы, малоннового диальдегида в сыворотке крови).

Ингаляционное воздействие на белых крыс самцов СМС «Ариель» изучали в подостром эксперименте в концентрациях 45 (1-ая группа), 31 (2-ая группа) и 21 мг/м³ (3-я группа), 4-ая группа была контрольной. Длительность воздействия была различной в зависимости от концентрации и проявления биологического действия вещества (по первым достоверным сдвигам исследуемых показателей) [3].

Наиболее выраженные достоверные изменения наблюдали у животных 1-ой группы через 4 ч воздействия со стороны ЦНС, поведенческих реакций, периферической крови, биохимических показателей (выявлена активация процессов анаэробного гликолиза в печени и почках и снижение процессов прямого окисления глюкозы в печени, активация лизосомальных гидролаз и увеличение содержания белка в печени) и морфологических показателей.

У животных 2-ой группы достоверные изменения со стороны центральной нервной системы и поведенческих реакций наступили через 12 ч, из показателей периферической крови увеличивался средний объем эритроцитов через 12 и 24 ч.

В 3-ей группе животных (21 мг/м³, через 96 ч) были отмечены изменение поведенческих реакций, процессы анаэробного гликолиза и прямого окисления глюкозы в печени не отличались от контроля и несколько активированы в почках, однако сохранялась активация лизосомальных ферментов в печени.

Морфофункциональное состояние тучных клеток свидетельствовало об изменении реактивности тучных клеток, наиболее значимое – при воздействии СМС в концентрации 45 мг/м³, наблюдалось повышение их активного функционирования в виде гиперплазии (достоверное

Качественный и количественный состав исследуемых СМС

Компоненты	Состав, %		
	Миф-Универсал	Тайд Экстра Лимон	Ариель
Линейный алкилбензолсульфонат натрия	10–15,5	9–16	13–28
Натрия триполифосфат	10–20	18–32	18–32
Натрия сульфат	20–45	30–55	10–35
Синтанол ДС-10	3,0	-	-
Цеолит натрия	0,0–4,0	-	-
Стекло натриево жидкое	5	-	-
Сода кальцинированная	10	-	8–15
Поликарбосилаты	-	< 3	< 3
Силикат натрия	-	5–15	3–10
Натрий карбоксиметилцеллюлоза	-	< 1	< 1
Оптический отбеливатель	< 1	< 1	< 1
Полиэтиленгликоль	-	< 1	< 1
Отдушка	< 0,8	< 1	< 1
Энзимы	-	< 0,8	< 0,8
Краситель голубой	-	< 0,1	< 0,1
Краситель фталоцианиновый	-	< 0,1	< 0,1
Перборат натрия	-	< 8	< 12
Сульфат магния	-	< 1	< 1
Целлюлаза	-	< 0,8	< 0,8
Остальное	0,9–1,8	-	-

увеличение их числа на единицу площади пленки рыхлой подкожной соединительной ткани), достоверного интенсивного насыщения гранулами и повышения дегрануляции. У некоторых животных этой группы (у 2-х из 6-ти) отмечалось повреждение тучных клеток в виде их распада и образования крупных бесструктурных конгломератов.

При ингаляции СМС «Ариель» в концентрации 31 мг/м³ среди общего количества тучных клеток достоверно увеличивалось только количество клеток, насыщенных гранулами, содержащими биологически активные вещества (гепарин, гистамин, серотонин и др.).

Исследования по изучению аллергенного действия СМС «Ариель» проведены на морских свинках – альбиносах (самцах) в 5-ти концентрациях. После ингаляционного воздействия и восстановительного периода поэтапно также были поставлены аллерготесты – интразальные и кожные в соответствии с [4].

У животных, подвергавшихся ингаляционному воздействию СМС в концентрациях 5–7,5 мг/м³, вне зависимости от времени аллергических реакций не наблюдалось.

У животных, вдыхавших СМС в концентрации 51,25 мг/м³ в течение 4-х ч, одна морская свинка (из 6-ти) через 24 ч ответила аллергиче-

ской реакцией по типу гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) с размером инфильтрата 0,5×1,0 см, который самостоятельно разрешился через 48 ч.

Из 6-ти животных, вдыхавших СМС в концентрации 55,4 мг/м³ в течение 24 ч, 2 морские свинки отреагировали аллергической реакцией по типу ГЗТ с размерами инфильтратов 0,5×0,8 см и 0,7×1,0 см, которые самостоятельно разрешились через 48 ч.

Вдыхание СМС в концентрациях 7,5–7,15 мг/м³ вызывало достоверное увеличение лейкоцитов к 168 и 326 ч воздействия, изменения со стороны крови сохранялись и к концу восстановительного периода. В данной серии эксперимента исследованы были также биохимические показатели, характеризующие системы внутриклеточной защиты от экзогенных и эндогенных токсичных метаболитов на уровне лизосом (β -N-ацетилглюкозаминидаза, β -глюкуронидаза), состояние пластических функций микросом (ацетилэстераза), энергообеспечение на уровне цикла Кребса (малатдегидрогеназа) и содержание общего белка по Лоури. Так, в ткани печени была достоверно снижена активность лизосомальных гидролаз через 24 ч, а также активность лизосомального фермента – β -глюкуронидазы через 14 суток после воздействия ми-

нимальной концентрации, что свидетельствовало об угнетении защитных функций лизосом в печени при данных режимах и времени воздействия.

На основании проведенных экспериментальных исследований и по аналогии с изученными СМС рекомендованы ПДК в воздухе рабочей зоны СМС «Ариель», «Тайд» и «Миф-Универсал» на уровне 5 мг/м³, класс опасности – 3, с пометкой «Аллерген». Норматив утвержден Минздравом России и включен в ГН 2.2.5.1313-03.

По данным экспериментов с использованием белых беспородных крыс и морских свинок установлено, что изменения со стороны организма зависят от концентрации и времени воздействия, т. е. подчиняются общебиологической зависимости «lg концентрации – lg времени». Порог хронического действия к 2880 ч составил 1,5–7 мг/м³, коэффициент запаса 6–50 (в зависимости от исследуемого показателя и угла наклона прямой зависимости «lg концентрации – lg времени»), недействующая концентрация – 0,17–0,25 мг/м³. Рекомендованы ПДК в атмосферном воздухе: максимальная разовая 0,15, среднесуточная – 0,05 мг/м³, класс опасности 3, лимитирующий показатель вредности – резорбтивное действие. Норматив утвержден Минздравом России и включен в ГН 2.1.6.1338-03.

Контроль содержания указанных СМС в воздухе рабочей зоны и атмосфере населенных мест при отсутствии других аэрозолей можно осуществлять гравиметрическим методом, для селективной идентификации СМС – по фотометрическому измерению концентраций синтетических моющих средств по основному компоненту – поверхностно-активному веществу с учетом процентного содержанию его в СМС (МЗ СССР, № 2394-81).

Список литературы

1. **Тепикина Л.А.** Научно-методические основы ускоренной оценки токсичности и опасности веществ, загрязняющих атмосферный воздух. // Автореф. дисс. док. – М., 2007.

2. **Пинигин М.А.** Санитарная охрана атмосферного воздуха городов. – М.: Медгиз, 1976. – С. 15-47.

3. **Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы, МУ 1.1.578-96.** – М.: МЗ РФ, 1996.

4. **Федосеева В.Н., Порядин Г.В., Ковальчук Л.В. и др.** Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях. – М., 1992. – 320 с.

Материал поступил в редакцию 25.12.08.

УДК 613.488

С.А. Остроумов, Е.А. Соломонова

МГУ им. М.В. Ломоносова

ДЕТЕРГЕНТ «AMWAY DISH DROPS»: ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ВОДНЫЙ МАКРОФИТ *ELODEA CANADENSIS*

«Amway Dish Drops» – жидкий детергент, густая пенящаяся концентрированная жидкость для мытья посуды зеленого цвета, с приятным запахом. Состав: неионогенные поверхностно-активные вещества (ПАВ) – 15–30%, анионные ПАВ, отдушка, лимонен, метилхлоризотиазолин, метилизотиазинон. Производитель: Access Business Group LLC, ADA, MI 49355 USA.

Цель работы – охарактеризовать возможное воздействие жидкого детергента «Amway Dish Drops» на водный макрофит *Eloдея canadensis* Mchk.

При постановке опытов в сосуды с отстоянной в течение 48 ч водопроводной водой (объем воды – 0,8 л) помещали растения *Eloдея canadensis* Mchk (семейство водокрасовые – *Hydrocharitaceae*). В каждом сосуде суммарная биомасса растений (сырой вес) составляла 4,0–4,5 г. Концентрация «Amway Dish Drops» в сосудах составляла: 200, 300 и 400 мг/л. Опыты проводили в двукратных повторностях при температуре воды в сосудах 22±1 °С, в условиях естественной фотопериодичности. Детергент добавляли один раз в начале опыта. Наблюдения за состоянием сосудов с макрофитами продолжали в течение 21 суток. Результаты представлены в табл. После 3-х суток воздействия детергента повреждающий эффект на растения наблюдали при концентрации «Amway Dish Drops» 300 мг/л и выше. Повреждающее воздействие проявлялось в снижении тургорного давления, вследствие чего апикальные части всех побегов были направлены вниз (не наблюдали побегов с концевой растущей частью направленной вверх).

При более длительной инкубации (в течение 10 суток) повреждающее воздействие наблюдали и при меньших концентрациях «Amway Dish Drops» – начиная с концентрации 200 мг/л и выше.

Полученные результаты дополняют опыты, показавшие нарушение биологических функций организмов при воздействии других синтетических моющих средств (СМС). Так, ранее было показано нарушение роста культур эвглен при воздействии СМС «Кристалл» и «Лотос-Автомат» [2], снижение фильтрации воды моллюсками при воздействии СМС «ОМО» [3], торможение роста проростков покрытосеменных растений при действии нескольких препаратов СМС [1, 4, 5].

Состояние растений *Elodea canadensis* при воздействии детергента «Amway Dish Drops»

Концентрация детергента, мг/л	Длительность инкубации	
	3 суток	10 суток
контроль	Нормальный тургор; фрагментации стеблей не наблюдается, листья нормальной пигментации (ярко-зеленые); опадения листьев не наблюдается	
200	Заметного отличия от контроля не наблюдается	Снижение тургора, апикальные части всех побегов направлены вниз вследствие снижения тургорного давления
300	Снижение тургора; апикальные части всех побегов направлены вниз вследствие снижения тургорного давления	Апикальные части всех побегов направлены вниз вследствие снижения тургорного давления; стебли всех растений подверглись фрагментации, при этом около 50 % фрагментов имеют длину менее 6 см; опадение части зеленых листьев на дно сосуда
400	То же	То же

Список литературы

1. **Остроумов С.А.** Биологические эффекты при воздействии поверхностно-активных веществ на организмы. – М.: МАКС Пресс, 2001. – 344 с.

2. **Остроумов С.А., Галяма Д., Блажей А. и др.** Синтетические моющие средства (СМС) «Кристалл» и «Лотос-Автомат» // Токсикол. вестник, 1998. – № 5. – С. 29-30.

3. **Остроумов С.А., Колотилова Н.Н.** Синтетическое моющее средство ОМО // Токсикол. вестник, 2000. – № 5. – С. 43-44.

4. **Остроумов С.А., Хорошилов В.С.** Биотестирование вод, загрязненных поверхностно-активными веществами // Изв. Академии наук, сер. Биологическая, 1992. – № 3. – С. 452-458.

5. **Остроумов С.А., Хорошилов В.С.** Жидкие моющие средства *Biospul* и «Каштан» // Токсикол. вестник, 2001. – № 6. – С. 41-43.

Материал поступил в редакцию 10.03.09.

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Афанасьев В.В. **Неотложная токсикология: Руководство для врачей.** – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 379 с. 1000 экз.

Камышников В.С. **Справочник по клинико-биохимическим исследованиям в лабораторной диагностике.** – 3-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 889 с. 2000 экз.

Лея Ю.Я. **Оценка результатов клинических анализов крови и мочи: Справ. пособие.** – 4-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 183 с. 10000 экз.

Мовсумгызы М. **Белая смерть: Избавление от зависимости к наркотическим веществам, сигаретам и спиртным напиткам, предупреждение последствий, порождаемых ими.** – М.: Зебра Е, 2008. – 157 с. 2000 экз.

Основы национальной безопасности: Учеб. пособие для вузов / Л.А.Михайлова и др. – М.: Академия, 2008. – 175 с. – (Высш. проф. образование: Пед. специальности). 3000 экз.

Современные лекарственные средства: Ваша дом. аптека. / Сост. И.А.Корешкина. – М.: ОЛМА Медиа Групп, 2009. – 637 с. 3000 экз.

Современные лекарства: Карман. справочник. / Сост. И.А.Корешкина. – М.: ОЛМА Медиа

Групп, 2009. – 863 с. – (Энциклопед. справочники). 3000 экз.

Сычев Ю.Н. **Безопасность жизнедеятельности в чрезвычайных ситуациях: Учеб. пособие для вузов.** – М.: Финансы и статистика, 2009. – 222 с. 2500 экз.

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). **Technical Report № 104. Framework for the integration of human and animal data in chemical risk assessment. 2009.**

<http://www.ecetoc.org>

WHO Library Cataloguing in Publication Data. **Concise international chemical assessment document (CICAD) № 75: Cyclic acid anhydrides: Human health aspects, 2009.** <http://www.who/int/ipcs/en>

WHO Library Cataloguing in Publication Data. **Concise international chemical assessment document (CICAD) № 76: Inorganic chromium (III) compounds, 2009.** <http://www.who/int/ipcs/en>

World Health Organization. **IPCS harmonization project. Uncertainty and Data Quality in Exposure Assessment: Part 1: Guidance document on characterizing and communicating uncertainty in exposure assessment. Part 2: Hallmarks of data quality in**

chemical exposure assessment, 2008.

<http://www.who.int/ipcs/en>

UNEP Division of Technology, Industry and Economics (DTIE), Chemicals Branch, SAICM Secretariat. SAICM Information Bulletins (1 and 2), 2008.

<http://www.saicm.org>

UNEP/FAO. Secretariat of the Rotterdam Convention. Доклад Конференции Сторон Роттердам-

ской конвенции о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле о работе четвертого совещания, 2008. <http://www.pic.int>

К.К. Сидоров, А.А. Виноградова

ИНФОРМАЦИЯ

ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора извещает о том, что в мае-июне 2009 г. закончился срок действия государственной регистрации следующих веществ

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации Номер РПОХБВ	Дата окончания срока государственной регистрации
1	Бензолуксусная кислота $C_8H_8O_2$	103-82-2	α -Толуиловая кислота; фенилуксусная кислота	77.99.26.8.У. 3024.4.06 ВТ 002460	12.05.2009
2	Продукт взаимодействия 4-[(4-амино-3-метилфенил)амино]фенола с сульфидом натрия $C_{13}H_{14}N_2O \cdot Na_2Sx$	1327-57-7	Краситель органический сернистый синий 3П; краситель органический сернистый синий 3; краситель органический сернистый синий К; С.И.53440; краситель сернистый 7 (С.И. Sulfur Blue 7); С.И. Leuco Sulfur Blue 7	77.99.26.8.У. 5449.6.06 ВТ 002822	18.05.2009
3	Димер дец-1-ена $[C_{10}H_{20}]_2$	17438-89-0	Олефины C_{20} разветвленные; димер 1-децена негидрированный; разветвленный эйкозен; C_{20} Olefin; branched (1-decene dimer)	77.99.26.8.У. 5284.6.06 ВТ 002823	31.05.2009
4	Полимер трифторхлорэтена с 1-(этенилокси)бутаном и 2-(этенилокси)этанолом $[(C_2ClF_3)_i(C_6H_{12}O)_m(C_4H_8O_2)_n]_x$		Сополимер трифторхлорэтилена с бутоксиэтаном и 2-(винилокси)этанолом; сополимер трифторхлорвинила с винилбутиловым эфиром и моновиниловым эфиром этиленгликоля; сополимер ФПР-1; входит в состав лака ФПР-1	77.99.26.8.У. 7807.9.07 ВТ 002824	07.06.2009
5	диЦерий трикарбонат $C_3Ce_2O_9$	537-01-9	Церия (3++) соль карбоновой кислоты (3:2); церий углекислый; церий карбонат	77.99.26.8.У. 5451.6.06 АТ 002826	20.06.2009
6	2-Метил-2-этоксипропан $C_6H_{14}O$	637-92-3	2-Этокси-2-метилпропан; трет-бутилэтиловый эфир; трет-бутилэтилоксид; 1,1-диметилэтилэтиловый эфир; этил-трет-бутилоксид; этил-трет-бутиловый эфир (ЭТБЭ)	77.99.27.8.У. 8031.8.06 ВТ 002827	20.06.2009
7	Октилтриэтоксисилан $C_{14}H_{32}O_3Si$	2943-75-1	н-Октилтриэтоксисилан; триэтоксидоктилсилан; октилтриэтоксисилан технический	77.99.26.8.У. 8076.8.06 ВТ 002828	20.06.2009

Производство и применение перечисленных веществ возможно только после их перерегистрации.

**ПЕРЕЧЕНЬ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ,
ПРОШЕДШИХ ГОСУДАРСТВЕННУЮ РЕГИСТРАЦИЮ
(печатается с продолжением, сообщение № 85*)**

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ	Дата регистрации	Срок действия госрегистрации
1	Алкил C_{14-16} диметилбензолметанаминийхлорид $C_{23-25}H_{42-46}NCl$	68449-41-2	Алкил C_{14-16} диметилбензиламмоний хлорид; продукт ACTICIDE BAC 50M и ACTICIDE BAC 80 /водные растворы вещества/	77.99.26.8.У. 2157.3.09 ВТ 003052	16.03.09	временно до 09.09.11
2	5-Амино-2,3-дигидрофталазин-1,4-диона натриевая соль $C_8H_6N_3NaO_2$	20666-12-0	Гидразид 3-аминофталевоы кислоты натриевая соль; 3-аминофтальгидразида натриевая соль; 2-амино-1,2,3,4-тетрагидрофталазин-1,4-диона натриевая соль; Амазид; Амазит; Лазарин; Люминола натриевая соль; входят в состав Галавита	77.99.26.8.У. 1195.2.09 ВТ 002796	09.02.09	временно до 06.02.12
3	Бензоат калия $C_7H_5KO_2$	582-25-2	Бензойной кислоты калиевая соль; бензолкарбоновой кислоты калиевая соль; бензойнокислый калий; бензоат калия	77.99.26.8.У. 2538.3.09 ВТ 003083	26.03.09	постоянно
4	Бис(гидрированный талловый алкил)диметиламинийбентонит	68953-58-2	Бис(гидрированный талловый алкил)диметиламмония соль с бентонитом; бис(гидрированный талловый алкил)диметиламмоний бентонит; Бентон; Органобентонит	77.99.26.8.У. 1084.2.09 ВТ 002772	09.02.09	временно до 15.12.11
5	1,1,1,2,2,3,3-Гептафтор-3-[(трифторэтил)окси]пропан $C_5F_{10}O$	1623-05-8	Перфтор (пропилвиниловый эфир); эфир перфторпропилперфторвиниловый (мономер М-100)	77.99.26.8.У. 2059.3.09 ВТ 003062	10.03.09	временно до 15.10.11
6	1,3-Диоксациклопентан $C_3H_6O_2$	646-06-0	Метиленовый эфир этиленгликоля; дигидро-1,3-диоксол; формальэтиленацеталь; формальгликоль; 1,3-диоксолан	77.99.26.8.У. 2057.3.09 ВТ 003074	10.03.09	временно до 22.12.11
7	Магний дигидроксид H_2MgO_2	1309-42-8	Магний гидроокись; магний гидрат; магний гидроксид; каустическая магнезия	77.99.26.8.У. 1194.2.09 АТ 003073	09.02.09	временно до 10.12.11
8	2-Метил-5-хлор-(2Н)-изотиазол-3-он с 2-метил-(2Н)-изотиазол-3-оном $C_4H_4ClNOS + C_4H_5NOS$	55965-84-9	5-Хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он с 2-метил-4-изотиазолин-3-оном; 5-хлор-2-метил-3(2Н)-изотиазолоном; Асcticide SPX; Acticide MV; Acticide MV14 (водные растворы)	77.99.26.8.У. 2158.3.09 ВТ 003055	16.03.09	временно до 19.09.11
9	Октафторциклобутан C_4F_8	115-25-3	Циклооктафторбутан; перфторциклобутан; Хладон 318С(Ц); Хладон С318; Фреон С-318 (Freon С-318); Halocarbon С-318; Propellant С318; R-С 318; Хладон С318 технический	77.99.26.8.У. 2060.3.09 ВТ 002248	10.03.09	временно до 29.05.11
10	4,4'-[1,3-Фениленбис(азо)]бис-1,3-бензолдиамин $C_{18}H_{18}N_8$	1052-38-6	4,4'--(1,3-Фениленбис(азо)) бис(1,3-бензолдиамин); Сольвент коричневый 41; Solvent brown 41, С.1.21000:1	77.99.26.8.У. 2537.3.09 ВТ 002865	20.03.09	временно до 20.12.12

* Начало в № 4 за 1994 г.

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ	Дата регистрации	Срок действия госрегистрации
11	Фторуглерод		Фторуглерод марки ФУП	77.99.26.8.У. 2058.3.09 ВТ 003061	12.03.09	постоянно
12	[1,2-Этандинилбис(окси)] бисметанол $C_4H_{10}O_4$	3586-55-8	(Этилендиокси)диметанол; входит в состав продукта Предохранителя 025 (Preservative 025)	77.99.26.8.У. 2539.3.09 ВТ 003077	20.03.09	временнo до 09.02.12
13	2,2'-(1,2-Этендиил)бис-[5-[[4-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-6-(фениламино)-1,3,5-триазин-2-ил]амино]бензолсульфонат] динатрия $C_{40}H_{42}N_{12}Na_2O_{10}S_2$	4193-55-9	4,4'-Бис((4-анилино-6-бис-(2-гидроксиэтил)амино-S-триазин-2-ил)амино)-2,2'-стильбендисульфоновой кислоты динатриевая соль; C.I. Fluorescent Brightener 28; Blancophor MS 31, MS 72, RG 96FS; Optical Brightener; оптический отбеливатель ВА кислота (Optical Brightener Agent VA Acid)	77.99.26.8.У. 1856.3.09 ВТ 003081	05.03.09	временнo до 04.03.12

ИНФОРМАЦИЯ

7-ой КОНГРЕСС ПО ТОКСИКОЛОГИИ В РАЗВИВАЮЩИХСЯ СТРАНАХ Сан Сити, Южная Африка, 6-10 сентября 2009 г.

Научная тематика конгресса:

- Клиническая токсикология
- Судебная токсикология, включая генетически модифицированные организмы и минимальные уровни остаточных продуктов
- Токсические воздействия в рабочей зоне в развивающихся странах
- Проблемы токсикологии, связанные с загрязнителями окружающей среды, включая эндокринные разрушители, частицы, ионы металлов, асбест, загрязнители, связанные с уничтожением электронных отходов, и их воздействиями в развивающихся странах, например металлобромированных замедлителей распространения пламени и др.
- Этика в клинических исследованиях и доклинических испытаниях в развивающихся странах
- Создание потенциала в области токсикологии в развивающихся странах, включая тренинг и передачу информации
- Токсикологические проблемы, связанные с лекарственными средствами: новый закон в отношении требований к маркировке для лекарственных растений
- Ветеринарная токсикология
- Роль центров по лечению отравлений в развивающихся странах
- Оценка риска, наука по оценке риска и передача информации о риске в развитых и развивающихся странах; смеси и оценка риска
- Скрытые эффекты воздействий на раннем этапе жизни
- Токсикогеномика и протеомика

Подробнее на сайте www.7ctdc.co.za