

УДК 57.052 : 615.099

ЭСТЕРАЗНЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ МЫШЕЙ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ 2-(О-КРЕЗИЛ)-4Н-1,3,2-БЕНЗОДИОКСОФОСФОРИН-2-ОКСИДОМ

Д.С. Прокофьева, В.И. Шмурак, А.Е. Кривошеин, Е.А. Бодрякова, Н.Г. Войтенко

ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский, Российская Федерация

Проведено исследование влияния на эстеразный профиль крови мышей различных доз 2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодиоксафосфорин-2-оксида (СВDP) спустя 1 и 24 ч после его подкожного введения животным. Установлено, что СВDP не является специфичным ингибитором карбоксилэстеразы (КЭ) плазмы крови мышей, так как он в равной степени ингибирует и бутирилхолинэстеразу (БХЭ) крови. СВDP является малоэффективным ингибитором ацетилхолинэстеразы (АХЭ) сыворотки крови мышей и не обладает выраженным действием по отношению к АХЭ мембран эритроцитов, однако в больших дозах он способен снижать количество последних.

Ключевые слова: 2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодиоксафосфорин-2-оксид, сериновые эстеразы, ингибитор, мыши.

Введение. Благодаря низкой субстратной специфичности и относительно большому количеству в плазме крови и других тканях бутирилхолинэстераза (БХЭ), карбоксилэстераза (КЭ) и параоксоназа (ПОН) являются основными эстеразами, оказывающими влияние на стабильность химических соединений с эфирной связью (в том числе лекарств) в организме млекопитающих. Набор и количество этих ферментов (иначе – эстеразный профиль) у разных видов имеют существенные отличия. Одно из них – отсутствие в крови человека КЭ, в то время как в крови животных этот фермент обнаружен в больших количествах. Данный факт зачастую существенно усложняет экстраполяцию на человека фармако- и токсикологических данных, полученных в экспериментах на животных.[1]. К настоящему времени известно немало веществ, способных необратимо ингибировать сериновые эстеразы. Однако из-за большого сходства в пространственной конфигурации активных центров сериновых эсте-

раз, лишь единичные соединения отличаются не только высокой эффективностью, но и высокой селективностью по отношению к конкретному ферменту. В качестве примера можно назвать фосфорорганические отравляющие вещества, которые являются эффективными и селективными ингибиторами ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Основной причиной того, что большинство известных ингибиторов сериновых эстераз обладают низкой селективностью, является наличие в активном центре всех сериновых гидролаз и протеаз одной и той же каталитической триады: Ser/His/Asp (Glu). Механизм ацилирования/деацилирования этих ферментов также сходен. Следовательно, эти ферменты будут в той или иной степени ингибироваться одними и теми же классами соединений.

КЭ – это семейство сериновых эстераз, ответственных за метаболизм и трансформацию большого количества ксенобиотиков, содержащих эфирную связь. В последнее десятилетие создание ингибиторов различных изо-

Прокофьева Дарья Станиславовна (Prokofieva Daria Stanislavovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, darija-p1@yandex.ru

Шмурак Владимир Игоревич (Shmurak Vladimir Igorevich), младший научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, vladimir.shmurak@gmail.com

Кривошеин Антон Евгеньевич (Krivoshein Anton Evgen'evich), научный сотрудник лаборатории химического моделирования ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, krivosheinanton@gmail.com

Бодрякова Елена Антоновна (Bodryakova Elena Antonovna), лаборант лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, bodalena@yandex.ru

Войтенко Наталья Геннадиевна (Voytenko Natal'ya Gennadijevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, ngvoitenko@gmail.com

форм КЭ привлекает все больше ученых, так как такой подход позволит модулировать метаболизм этерифицированных лекарственных средств и других ксенобиотиков, а также снижать их токсичность. На сегодняшний день известно несколько видов сильных ингибиторов КЭ, большинство из которых обладают обратимым типом ингибирования. Потенциальные ингибиторы КЭ – это, как правило, гидрофобные вещества, содержащие одно или более ароматическое кольцо и электрофильные центры (карбонил- и сульфонил-группы). Одним из наиболее известных необратимых ингибиторов КЭ является 2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодиоксафосфорин-2-оксид (СВDP). Несмотря на то, что исследования острого воздействия СВDP на активность эстераз крыс и мышей проводились неоднократно, результаты исследования динамики этого процесса немногочисленны (динамика процесса изучена слабо). Известны всего несколько работ, в которых можно найти данные по этому вопросу. Самооценочное исследование датировано 1984 годом [2]. Однако в нем была использована необоснованно высокая доза СВDP (50 мг/кг), которую п/к вводили мышам. На сегодняшний день известно [3, 4], что такая доза более чем на порядок превосходит оптимальную дозу СВDP, то есть ту дозу, которая необходима для максимального снижения активности КЭ и минимального снижения активности всех остальных эстераз крови. В исследовании 1998 г. [5] были использованы крысы, и лишь в исследовании 2010 года есть данные по динамике изменения активностей КЭ и БХЭ крови мышей спустя разные сроки после п/к введения СВDP, но только в одной дозе – 1,5 мг/кг [4]. Во всех перечисленных работах не была проведена полная оценка эстеразного профиля животных, в котором вводили СВDP. В наиболее подробном исследовании 1984 г. не была проведена оценка изменения активности БХЭ во времени при введении разных доз ингибитора, а в исследовании 2010 года не проводилась оценка активности АХЭ сыворотки крови и эритроцитов. Известно, что разные линии лабораторных животных существенно отличаются активностью эстераз сыворотки крови [6], в связи с чем, для достижения одного и того же эффекта, дозы ингибитора могут существенно варьировать для двух разных линий лабораторных животных. В опытах *in vitro* было показано [6], что величина концентрации ингибитора, которая приводит к инактивации половины молекул фермента (IC_{50}), для СВDP по отношению к КЭ сыворотки крови крыс трех разных линий отличается в несколько раз. Поскольку рабочий диапазон доз для ингибиторов сериновых эстераз может быть довольно узок ввиду их низкой специфичности,

крайне важно проводить динамическую оценку эстеразного статуса изучаемой популяции животных до и после введения им ингибитора.

Целью настоящей работы явилось исследование ингибирующей активности СВDP по отношению к основным эстеразам крови мышей в зависимости от дозы ингибитора и времени отбора проб.

Материалы и методы исследования. В работе были использованы 63 самки белых нелинейных мышей массой 20-22 г. Перед началом эксперимента животные были распределены случайным образом по 9 группам. При работе были соблюдены требования по гуманному обращению с животными. Условия содержания экспериментальных животных соответствовали нормативному документу «Об утверждении правил лабораторной практики» (Приказ Минздрава России от 23.08.2010 г. №708н).

Животным вводили СВDP, синтезированный по методу, описанному в работе Nomeir A.A. и Abou-Donia M.B. в 1986 г. [7] п/к в дозах 1, 2, 4, 8 мг/кг. В качестве растворителя использовали 5% раствор этилового спирта в пропиленгликоле. Контрольной группе вводили эквивалентный объем растворителя. Спустя 1 или 24 ч животных выводили из эксперимента путем декапитации, после чего отбирали аликвоту цельной крови для измерения активности АХЭ эритроцитов. Из остальной крови получали сыворотку, которую хранили при -80°C и анализировали в течение 2-х недель с момента окончания эксперимента.

В работе были использованы традиционные методы анализа активности сериновых эстераз с незначительными модификациями [5, 8]. При определении активностей БХЭ в качестве субстрата использовали бутирилтиохолин. Для оценки активности КЭ использовали два субстрата: α -нафтилацетат (α -НА) и *p*-нитрофенилацетат (*p*-НФА). Активность АХЭ эритроцитов измеряли после двукратной отмывки клеток от плазмы крови, используя в качестве субстрата ацетилтиохолин. Оценка активности АХЭ сыворотки крови проводили в присутствии ингибитора БХЭ iso-OMPA, поскольку известно, что БХЭ способна активно гидролизовать ацетилтиохолин. Активность ПОН измеряли с использованием параоксона в присутствии 2мМ CaCl_2 в 0,1М буферном растворе Tris-HCl pH 8,0 [9]. Измерение количества продуктов ферментативных реакций проводили в кинетическом режиме в присутствии избытка субстрата. После проведения расчета скоростей образования продуктов вычисляли значения активностей соответствующих ферментов в экспериментальных и контрольных пробах, используя известные значения коэффициентов молярной

экстинкции продуктов. В ходе вычислений учитывали самопроизвольный распад субстрата. Данные в таблицах представлены в виде % активности, рассчитанного по отношению к значениям в контрольной группе.

Количество эритроцитов в цельной крови считали в камере Горяева.

В качестве объекта исследования для экспериментов *in vitro* была использована пулированная сыворотка 10 мышей. К объекту исследования добавляли стоковые растворы СВDP в 10 мМ фосфатном буферном растворе pH 7.4, содержащего 137 мМ NaCl и 2,7 мМ KCl, в объемном соотношении 1:9, после чего пробы сразу перемешивали. Концентрации СВDP в стоковых растворах были в 10 раз выше конечных концентраций веществ в пробах и составляли от 2,5 до 150 мкМ. Пробы инкубировали при 37°C в течение 1, 4 и 24 ч. По истечении указанного времени пробы интенсивно перемешивали и из них отбирали аликвоты для незамедлительного определения активности БХЭ и КЭ. В качестве контрольных проб использовали образцы исследования, к которым вместо растворов СВDP добавляли соответствующий объем фосфатного буферного раствора.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью программного обеспечения GraphPadPrizm 5.0. Перед анализом данных проводили проверку нормальности их распределения (тест Колмогорова-Смирнова). Данные подчинялись нормальному распределению, поэтому для дальнейшей обработки использовали параметрический однофакторный дисперсионный анализ и тест Даннета (частный случай поправки Бонферрони для сравнения нескольких групп с контролем). Для оценки характера и степени совместного влияния двух факторов (дозы и времени отбора проб) на исследуемые параметры применяли двухфакторный дисперсионный анализ. Критический уровень значимости (P) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Данные на рисунках представлены в виде «среднее ± стандартное отклонение».

Результаты и обсуждение. В результате проведенной работы было установлено, что снижение активности большинства исследованных показателей спустя 1 ч после введения животным СВDP в диапазоне доз от 1 до 8 мг/кг происходит дозозависимым образом. Изменения активности эстераз через сутки после введения СВDP по сравнению с 1 ч имеют неодинаковый характер (табл. 1-2). Спустя сутки активности КЭ и БХЭ статистически значимо повышаются по сравнению с этими же показателями на раннем сроке в диапазоне доз 2-8 мг/кг. Для самой низкой дозы 1 мг/кг можно отметить наличие

тенденции к повышению активности КЭ и БХЭ с течением времени. Несмотря на это, для всех доз ингибитора значения указанных активностей продолжают статистически значимо отличаться от контрольных значений даже спустя сутки после введения вещества. Известно, что БХЭ и АХЭ человека необратимо ингибируется СВDP [10]. Установлено, что необратимость ингибирования является следствием чрезвычайно быстрого «старения» фермент-ингибиторного комплекса. Таким образом, можно предположить, что повышение активности БХЭ с течением времени обусловлено ее синтезом в печени. Причем эта функция, по всей видимости, активизируется при снижении доли активных ферментов в крови животных до некоего критического значения, которое лежит в диапазоне от 20% до 60% базовой активности. Для КЭ это предположение также может быть справедливо. Однако однозначных свидетельств необратимости ингибирования БХЭ и КЭ крови мышей СВDP в литературе нет, поэтому для проверки выдвинутой гипотезы мы провели эксперимент *in vitro* с пулированной сывороткой мышей, к которой добавляли разные количества ингибитора. Концентрации ингибитора подбирали таким образом, чтобы охватить весь диапазон возможного изменения ферментативной активности. Через несколько временных интервалов производили отбор проб и определяли активности интересующих ферментов. Оказалось, что ни БХЭ, ни КЭ сыворотки крови мышей спонтанно не реактивируется, по крайней мере, в течение 24 ч после взаимодействия с ингибитором, поскольку статистически значимых отличий между контрольной пробой и опытными пробами обнаружено не было (рис. 1 и 2). Таким образом, можно заключить, что *in vivo* повышение активности БХЭ и КЭ крови мышей с течением времени после введения ингибитора обусловлено их синтезом *de novo* печени.

Активность АХЭ сыворотки дозозависимым образом снижается при остром отравлении мышей СВDP. Однако это снижение менее выражено по сравнению с его действием на активность БХЭ и КЭ. Статистически значимые отличия экспериментальных и контрольных значений были установлены для диапазона доз 2-8 мг/кг. Также было установлено, что активность АХЭ сыворотки спустя 1 ч после введения СВDP не имеет статистически значимых отличий от значения того же параметра, измеренного через сутки после воздействия, то есть в течение 24 часов активности АХЭ сыворотки не начинает восстанавливаться. Наблюдаемый эффект вполне предсказуем, учитывая необратимый характер ингибирования [10] и тот факт, что источ-

Таблица 1

Зависимость значений ферментативной активности КЭ и БХЭ крови мышей от дозы СВDP, измеренных спустя 1 и 24 ч после воздействия. Величины активностей представлены в процентном отношении к контрольным значениям, (n =7)

Доза, мг/кг	КЭ (субстрат α -НА)		КЭ (субстрат p-НФА)		БХЭ	
	1 ч	24 ч	1 ч	24 ч	1 ч	24 ч
0	100±7	100±7	100±9	100±9	100±18	100±18
1	80±13*	78±6*	62±16*	63±7*	63±16*	71±10*
2	28±16*	65±5*†	17±11*	50±5*†	16±8*	50±5*†
4	7±3*	56±6*†	5±2*	42±6*†	3±1*	32±3*†
8	5±1*	57±10*†	2±1*	39±9*†	1±1*	23±6*†

Примечание: * – статистически значимые отличия экспериментальных групп от контрольной группы; † – статистически значимые отличия между двумя временными интервалами для каждой дозы по результатам двухфакторного дисперсионного анализа.

Таблица 2

Зависимость значений ферментативной активности ПОН и АХЭ сыворотки и мембран эритроцитов от дозы СВDP, измеренных спустя 1 и 24 ч после воздействия. Величины активностей представлены в процентном отношении к контрольным значениям, (n =7)

Доза, мг/кг	АХЭ сыворотки		АХЭ эритроцитов		ПОН	
	1 ч	24 ч	1 ч	24 ч	1 ч	24 ч
0	100±12	100±12	100±16	100±16	100±19	100±19
1	96±18	107±10	102±13	85±15	142±29*	102±25†
2	76±10*	81±6*	108±27	83±17	134±25	118±20
4	59±8*	68±9*	106±20	71±13*†	110±18	111±15
8	60±11*	58±8*	84±16	73±12*	93±35	94±16

Примечание: * – статистически значимые отличия экспериментальных групп от контрольной группы; † – статистически значимые отличия между двумя временными интервалами для каждой дозы по результатам двухфакторного дисперсионного анализа.

ник АХЭ в сыворотке, в отличие от БХЭ и КЭ, до сих пор неизвестен.

С другой стороны, активность АХЭ, локализованной на мембранах эритроцитов, через 24 ч после введения ингибитора имеет тенденцию к снижению по сравнению с тем же показателем для 1 ч, и на дозе 4 мг/мл это снижение носит статистически значимый характер. Двухфакторный дисперсионный анализ этих данных показал, что оба фактора (время и доза) статистически значимо влияют на активность АХЭ эритроцитов, причем степень влияния времени ($P=0.0002$) носит более выраженный характер по сравнению с дозой ($P=0.0321$). Причиной наблюдаемого эффекта может быть изменение количества эритроцитов, а также изменения структурных мембраны. Для проверки первой

гипотезы было выполнено дополнительное исследование. На рисунке 3 приведены данные об изменении количества эритроцитов с течением времени после введения животным СВDP в дозе 4 мг/кг. Оказалось, что спустя 1 ч количество эритроцитов в крови животных незначительно повышается, а через сутки статистически значимо снижается по сравнению с контрольным значением. Следовательно, незначительное повышение активности АХЭ мембран эритроцитов спустя 1 ч после введения животным СВDP связано с повышением количества эритроцитов в крови, в то время как статистически значимое снижение активности АХЭ мембран эритроцитов обусловлено снижением количества эритроцитов в крови животных на этой временной точке. Таким образом, можно заклю-

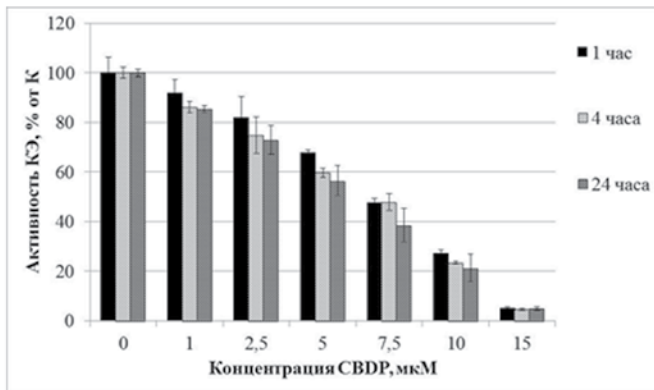


Рис. 1. Изменение активности КЭ (субстрат р-НФА) в присутствии CBDP в опытах *in vitro* в зависимости от концентрации ингибитора и времени отбора проб для анализа.

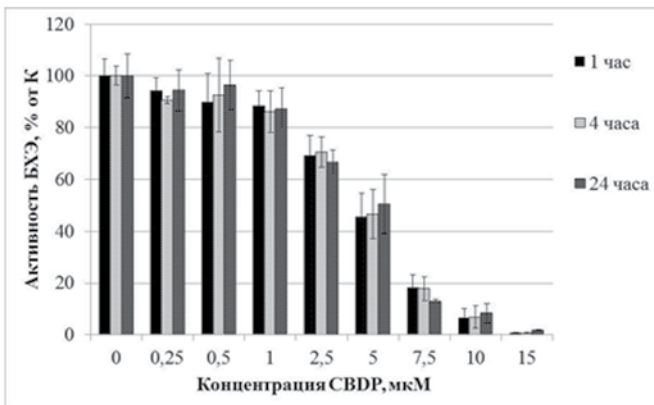


Рис. 2. Изменение активности БХЭ в присутствии CBDP в опытах *in vitro* в зависимости от концентрации ингибитора и времени отбора проб для анализа.

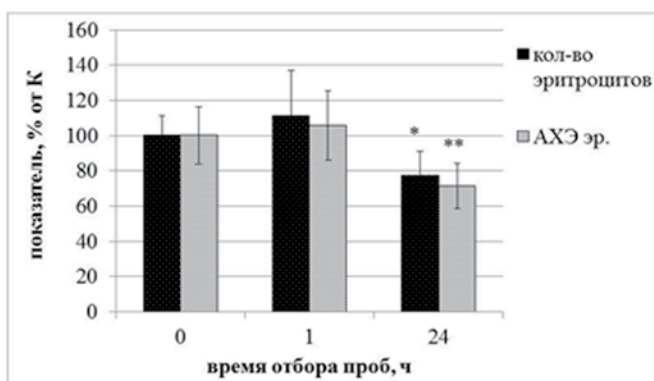


Рис.3. Изменение количества эритроцитов и активности АХЭ их мембран в крови мышей после п/к введения CBDP в дозе 4 мг/кг

чить, что CBDP не оказывает ингибирующего действия на АХЭ мембран эритроцитов. С этим утверждением не согласуются данные, полученные на максимальной использованной дозе ингибитора. Вероятно, это связано с тем, что в этом случае снижение количества эритроцитов в крови наступило в более ранние сроки, что не позволило проследить описанную для меньших доз динамику изменений. Снижение количества эритроцитов при остром отравлении CBDP может быть вызвано фазовым снижением гематокрита. Однако данное предположение требует проведения дополнительных исследований.

Обнаружено статистически значимое повышение активности ПОН спустя 1 ч после введения CBDP в дозе 1 мг/кг (табл. 2). Дальнейшее увеличение дозы снижает наблюдаемый эффект до уровня контрольных значений активности. Спустя сутки после введения CBDP уровень активности ПОН сыворотки крови соответствует контрольным значениям для всех использованных доз ингибитора.

Таким образом, можно утверждать, что CBDP не является специфическим ингибитором КЭ крови мышей, как это принято было считать до недавнего времени [4, 5, 12, 13]. В то же время необходимо отметить, что на активность АХЭ крови мышей CBDP влияет в меньшей степени, чем на активность БХЭ и КЭ. Следовательно, CBDP в дозе 4 мг/кг можно использовать в качестве соединения полностью устраняющего активность БХЭ и КЭ крови мышей, но не влияющего на активность АХЭ мембран эритроцитов. Также данное соединение можно применять в качестве ингибитора эстераз *in vitro*. Необходимо отметить, что в предыдущей работе [11] нами было показано, что для крыс ситуация немного иная. CBDP может проявлять относительную специфичность в отношении КЭ крови крыс по сравнению с БХЭ. Однако это, скорее всего, является следствием не только и не столько специфичности, но главным образом другого количественного соотношения эстераз крови мышей и крыс. Таким образом, результаты, полученные при использовании ингибитора сериновых эстераз на одном виде лабораторных животных, нельзя переносить на другой вид без проведения хотя бы пилотных экспериментов. Также мы обнаружили снижение количества эритроцитов спустя сутки после введения CBDP и повышение активности ПОН на меньшей дозе ингибитора. Объяснение причин этих явлений требует проведения дальнейших исследований.

Заключение. Введение мышам CBDP сопровождается дозозависимым снижением ак-

тивности основных сериновых эстераз крови. Спустя сутки после воздействия эти показатели все еще статистически значимо отличаются от контрольных значений, что свидетельствует о том, что 24 часов не достаточно для полного восстановления активности КЭ и БХЭ крови мышей при применении доз СВDP от 1 мг/кг до 8 мг/кг. На активность АХЭ сыворотки СВDP оказывает аналогичное, но менее вы-

раженное действие, причем в отличие от КЭ и БХЭ активность АХЭ сыворотки за 24 часа практически не меняется при любой дозе ингибитора. Снижение активности АХЭ эритроцитов через сутки после введения ингибитора, равно как и повышение активности ПОН на минимальной дозе СВDP, трудно объяснить с точки зрения имеющейся на настоящий момент в литературе информации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bahar F.G., Imai T. Aspirin Hydrolysis in Human and Experimental Animal Plasma and the Effect of Metal Cations on Hydrolase Activities. *Drug Metab Dispos.* 2013; 41:1450-1456.
2. Clement J.G. Importance of aliesterase as a detoxification mechanism for soman (piinacolylmethylphosphonofluoridate) in mice. *Biochemical Pharmacology.* 1984; 33 (23): 3807-3811.
3. Maxwell D.M., Brecht K.M., O'Neill B.L. The effect of carboxylesterase inhibition on interspecies differences in soman toxicity. *Toxicol. Lett.* 1987;39(1):35-42.
4. Garrett T.L., Rapp C.M., Grubbs R.D., Schlager J.J., Lucot J.B. A murine model for sarin exposure using the carboxylesterase inhibitor CBDP. *Neurotoxicology.* 2010; 31: 502-508.
5. Yang Z.P., Dettbarn W.D. Prevention of tolerance to the organophosphorus anticholinesterase paraoxon with carboxylesterase inhibitors. *Biochem Pharmacol.* 1998; 55(9):1419-1426.
6. Clement J.G., Erhardt N. Serum carboxylesterase activity in various strains of rats: sensitivity to inhibition by CBDP (2-/o-cresyl/4H:1:3:2-benzodioxaphosphorin-2-oxide). *Arch. Toxicol.* 1990; 64(5): 414- 416.
7. Nomeir A.A., Abou-Donia M.B. Studies on the metabolism of neurotoxic tri-o-cresyl phosphate. *Toxicology.* 1986; 38: 1-13.
8. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.Jr., Feather-Stone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 1961. V.7.: 88-95.
9. Курдюков И.Д., Дубровский Я.А., Бабаков В.Н., Гончаров Н.В. Исследование полиморфизмов параоксоназы-1 у населения Кировской области. *Токсикологический Вестник.* 2012. №4, С. 13-18.
10. Carletti E., Schopfer L.M., Colletier J.P., Froment M.T., Nachon F., Weik M., Lockridge O., Masson P. Reaction of Cresyl Saligenin Phosphate, the Organophosphorus Agent Implicated in Aertotoxic Syndrome, with Human Cholinesterases: Mechanistic Studies Employing Kinetics, Mass Spectrometry, and X-ray Structure Analysis. *Chem. Res. Toxicol.* 2011; 24: 797 - 808.
11. Прокофьева Д.С., Кривошеин А.Е., Шмурак В.И., Бодрякова Е.А., Войтенко Н.Г. Определение оптимальной дозы 2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодioxофосфорин-2-оксида для селективного ингибирования карбоксилэстераз сыворотки крови крыс *in vivo*. Ученые записки Орловского государственного университета. 2014;7(63): 255-256.
12. Chambers J.P., Hartgraves S.L., Murphy M.R., Wayner M.J., Kumar N., Valdes J.J. Effects of three reputed carboxylesterase inhibitors upon rat serum esterase activity. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1991; 15(1):85-88.
13. Shapira S., Kadar T., Cohen G., Chapman S., Raveh L. Effects of CBDP and MEPQ on the toxicity and distribution of [3H]-soman in mice. *Arch Toxicol.* 1990;64(8):663-668.

REFERENCES:

1. Bahar F.G., Imai T. Aspirin Hydrolysis in Human and Experimental Animal Plasma and the Effect of Metal Cations on Hydrolase Activities. *Drug Metab Dispos.* 2013; 41:1450-1456.
2. Clement J.G. Importance of aliesterase as a detoxification mechanism for soman (piinacolylmethylphosphonofluoridate) in mice. *Biochemical Pharmacology.* 1984; 33 (23): 3807-3811.
3. Maxwell D.M., Brecht K.M., O'Neill B.L. The effect of carboxylesterase inhibition on interspecies differences in soman toxicity. *Toxicol. Lett.* 1987;39(1):35-42.
4. Garrett T.L., Rapp C.M., Grubbs R.D., Schlager J.J., Lucot J.B. A murine model for sarin exposure using the carboxylesterase inhibitor CBDP. *Neurotoxicology.* 2010; 31: 502-508.
5. Yang Z.P., Dettbarn W.D. Prevention of tolerance to the organophosphorus anticholinesterase paraoxon with carboxylesterase inhibitors. *Biochem Pharmacol.* 1998; 55(9):1419-1426.
6. Clement J.G., Erhardt N. Serum carboxylesterase activity in various strains of rats: sensitivity to inhibition by CBDP (2-/o-cresyl/4H:1:3:2-benzodioxaphosphorin-2-oxide). *Arch. Toxicol.* 1990; 64(5): 414- 416.
7. Nomeir A.A., Abou-Donia M.B. Studies on the metabolism of neurotoxic tri-o-cresyl phosphate. *Toxicology.* 1986; 38: 1-13.
8. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.Jr., Feather-Stone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 1961. V.7.: 88-95.
9. Kurdyukov I.D., Dubrovskiy Ya. A., Babakov V.N., Goncharov N.V. The study of polymorphisms of paraoxonase-1 in the population of the Kirov region. *Toksikologicheskij Vestnik.* 2012. №4, С. 13-18. (in Russian).
10. Carletti E., Schopfer L.M., Colletier J.P., Froment M.T., Nachon F., Weik M., Lockridge O., Masson P. Reaction of Cresyl Saligenin Phosphate, the Organophosphorus Agent Implicated in Aertotoxic Syndrome, with Human Cholinesterases: Mechanistic Studies Employing Kinetics, Mass Spectrometry, and X-ray Structure Analysis. *Chem. Res. Toxicol.* 2011; 24: 797 - 808.
11. Prokofieva D.S., Krivoshein A.E., Shmurak V.I., Bodryakova E.A., Voitenko N.G. Estimation of effective dose of 2-(O-cresyl)-4H-1,3,2-benzodioxaphosphorin-2-oxide for selective inhibition of rat serum carboxylesterases *in vivo*. *Uchenye zapiski Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2014; 7(63): 255-256. (in Russian).
12. Chambers J.P., Hartgraves S.L., Murphy M.R., Wayner M.J., Kumar N., Valdes J.J. Effects of three reputed carboxylesterase inhibitors upon rat serum esterase activity. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1991; 15(1):85-88.
13. Shapira S., Kadar T., Cohen G., Chapman S., Raveh L. Effects of CBDP and MEPQ on the toxicity and distribution of [3H]-soman in mice. *Arch Toxicol.* 1990;64(8):663-668.

D.S. Prokofieva, V.I. Shmurak, A.E. Krivoshein, E.A. Bodryakova, N.G. Voitenko

BLOOD ESTERASE PROFILE IN MICE AT ACUTE INTOXICATION BY 2-(O-CRESYL)-4H-1,3,2-BENZODIOXAPHOSPHORIN-2-OXIDE

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663, settlement Kuz'molovsky, Vsevolozhsk District, Leningrad Region, Russian Federation

The influence of 2-(o-cresyl)-4H-1,3,2-benzodioxaphosphorin-2-oxide (CBDP) on the blood esterase profile in mice was studied at different doses an hour and 24 h after its subcutaneous administration to animals. It is established that CBDP is not a specific carboxyl esterase inhibitor in mice blood serum as it equally inhibits blood butyrylcholinesterase as well. CBDP is a low effective acetylcholinesterase inhibitor in mice blood serum and does not pose an expressed effect in respect to acetylcholinesterase in erythrocytes membranes, however in high doses it is able to lower their amount.

Keywords: 2-(o-cresyl)-4H-1, 3, 2-benzodioxaphosphorin-2-oxide, serine esterase, inhibitor, mice.

Переработанный материал поступил в редакцию 08.02.2016 г.