

УДК [615.9-075.8: 577.121:543.632.585]: [576.3:615.015.25]

ОСОБЕННОСТИ ТОКСИКОКИНЕТИКИ МЕТАБОЛИТОВ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ G-ТИПА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ КРЫС ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ

*Н.Л. Корягина, Е.И. Савельева,
Д.С. Прокофьева, Н.С. Хлебникова,
Г.В. Каракашев, Е.С. Уколова,
А.С. Радилов, Н.В. Гончаров*

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

Исследовано влияние антидота пеликсима на возможность определения маркеров фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) G-типа - зарина и зомана в биопробах, полученных в остром эксперименте *in vivo* после отравления крыс ФОВ в дозах 0.5 ЛД₅₀. Установлено, что введение эквитоксических доз зомана и зарина приводит к снижению активности АХЭ мембран эритроцитов вплоть до 7 дней после отравления. Результат действия пеликсима на восстановление активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) эритроцитов наиболее выражен через сутки после отравления заринном. Регенерация ФОВ из состава белковых аддуктов плазмы крови с помощью фторид-иона в условиях эксперимента была возможна в течение периода до 7-ми дней после отравления зоманом без применения антидотной терапии и 3-х дней с применением терапии; при отравлении заринном - в течение 3-х дней независимо от применения антидота. Влияние антидота на экскрецию продукта гидролиза зарина – О-изопропилметилфосфоната (ИМФК) оказалось значительным, в то время как на экскрецию гидролитического метаболита зомана О-пинаколилметилфосфоната (ПМФК) введение антидота влияния не оказывало. Через сутки после отравления и введения пеликсима ИМФК был идентифицирован в моче на уровне 15.3 нг/мл, в то время как в образцах мочи животных, не получавших антидот, на уровне 55.0 нг/мл; через трое суток ИМФК был определен только в моче животных, получавших антидот, на уровне 4.9 нг/мл. Содержание ПМФК в моче животных, получивших антидот составляло 44 нг/мл через сутки после отравления, без антидота – 53 нг/мл, через 3 суток - 12 и 14 нг/мл, соответственно. Таким образом, влияние антидота на профиль экскреции гидролитических метаболитов значительнее для зарина, чем для зомана.

Ключевые слова: химико-токсикологический анализ, фосфорорганические отравляющие вещества, зарин, зоман, холинэстеразы, маркеры, хроматомасс-спектрометрия, антидотная терапия.

Корягина Надежда Леонидовна (Koryagina Nadezhda Leonidovna), к.х.н., вед.н.с. лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, koryagina@rihophe.ru

Савельева Елена Игоревна (Savelieva Elena Igorevna), д.х.н., заведующий лабораторией аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, savelieva@rihophe.ru

Прокофьева Дарья Станиславовна (Prokofieva Darya Stanislavovna), к.б.н., вед.н.с. лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии, ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, darja-p1@yandex.ru

Хлебникова Наталия Семеновна (Khlebnikova Nataliya Semenovna), к.х.н., руководитель международного отдела, с.н.с. лаборатории общей токсикологии и гигиенического нормирования ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, khlebnikova@rihophe.ru

Каракашев Георгий Васильевич (Karakashev Georgiy Vasilievich), к.б.н., вед.н.с. лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, grech@fmbamail.ru

Уколова Елена Сергеевна (Ukolova Elena Sergeevna), к.х.н., с.н.с. лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Lenalveva07@mail.ru

Радилов Андрей Станиславович (Radilov Andrey Stanislavovich), д.м.н., проф., заведующий отделом токсикологии, заместитель директора по научной работе ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, radilov@rihophe.ru

Гончаров Николай Васильевич (Goncharov Nikolay Vasilievich), д.б.н., вед.н.с. лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, ngoncharov@gmail.com

Введение. Идентификация и количественное определение отравляющих веществ (ОВ) и продуктов их метаболизма в биологических жидкостях являются актуальными задачами при расследовании аварийных ситуаций, биомониторинге персонала объектов по уничтожению химического оружия (ОУХО) в период вывода их из эксплуатации, кроме того, входят в комплекс мероприятий по обеспечению обязательств, принятых странами-участниками в рамках Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия (ХО) [1].

В ряду фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) G-типа наиболее известны зарин (О-изопропилметилфторфосфонат, GB, CAS:107-44-8) и зоман [О-(3,3-диметилбутан-2-ил)метилфторфосфонат, GD, CAS:96-64-0], рисунок 1.

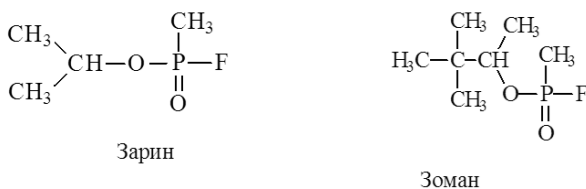


Рис. 1. Структурные формулы ФОВ G-типа

Основной механизм токсического воздействия ФОВ заключается в ингибировании ацетилхолинэстеразы (АХЭ), осуществляющей гидролиз ацетилхолина. Возможные пути превращений ФОВ в организме и маркеры интоксикации, рассмотренные в настоящей работе, представлены на рисунке 2.



Рис. 2. Маркеры интоксикации ФОВ

Возможность установления факта отравления ФОВ методами химико-токсикологического анализа определяется концентрациями маркеров в биопробах на момент исследования и возможностями методик их достоверной идентификации. Методами биохимического анализа в качестве биологического ответа регистрируют снижение каталитической активности АХЭ крови [2,3], методами химического анализа определяют сами ОВ или продукты их метаболизма (низкомолекулярные продукты гидролиза, белковые аддукты) [4-8].

В случае поражения ФОВ антидотная терапия с большой вероятностью будет проведена раньше, чем отобраны биопробы для анализа. В качестве антидотов при поражениях ФОВ применяются две группы веществ: холинолитики и реактиваторы ХЭ [9]. Наибольшее распространение из препаратов первой группы получил атропин. В больших дозах он обладает не только периферическим, но и центральным М-холинолитическим действием, а также проявляет дофаминоблокирующий эффект [10]. В качестве реактиваторов ХЭ применяют дипироксим, токсогонин, обидоксим и др. Принцип реактивации заключается в разрушении химической связи между ФОВ и ХЭ, в результате чего восстанавливается структура ХЭ и их функции. Кроме того, реактиваторы ХЭ обладают Н-холинолитическими свойствами, что обосновывает их применение в сочетании с атропином (М-холинолитиком) [11]. В России в качестве антидота само- и взаимопомощи и для экстренного лечения используется препарат пеликсим (АЛ-85), который вложен в аптечку индивидуальную, сумку медицинскую и ряд комплектов. В состав препарата входят центральные М-, Н-холинолитики, холинолитик пролонгированного действия, реактиваторы ХЭ, нейролептик. Препарат оказывает выраженное центральное и периферическое холиноблолирующее действие, обладает многими свойствами, характерными для реактиваторов ХЭ [12,13]. Антидотная терапия может изменить показатели токсикокинетики ФОВ и повлиять на результаты определения их метаболитов в биопробах. Цель настоящего исследования – установление ретроспективности маркеров ФОВ G-типа при моделировании острого отравления животных (крысы) с применением антидотной терапии путем введения препарата Пеликсим (Pelixim).

Материалы и методы исследования.

ГСО и другие материалы.

Зоман (ГСО 8247-2003), зарин (ГСО 8246-2003), пеликсим, АЛ-85 (ФГУП Московский Эндокринный завод), О-изопропилметилфосфоновая, О-пинаколилметилфосфоновая кислоты и их дейтерированные аналоги синтезированы в НИИ химии Санкт-Петербургского Государственно-

го университета; ацетонитрил (ТУ 6-09-5497-91), муравьиная кислота (Fluka, кат. № 56302), калий фтористый 2-водный (CAS 7789-23-3, ГОСТ 20848-75), ацетат натрия (ГОСТ 199-78), уксусная кислота (ГОСТ 19814-74), дихлорметан (Supelco, кат. № 1.06044.2500), этилацетат (ГОСТ 22300-76), 10 мМ натрий-калиевый фосфатный буферный раствор (137 мМ NaCl и 2,7 мМ KCl), pH 7.4 (ФБ); 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота (Merck, 103291. Картриджи для твердофазной экстракции (ТФЭ) – OASIS HLB, 60 мг (Waters, кат. № WAT094226); фильтры Amicon Ultra-4 Centrifugal Filter Units (10к, Millipore); многоканальный вакуумный коллектор для ТФЭ (Supelco, кат. № 57030-U), вортекс (SkyLine, ELM1), ультразвуковая ванна (Elmasonic S30H, ELMA), термостатируемый шейкер (SkyLine ST-3L, ELM1).

Объекты анализа.

Образцы плазмы крови и мочи получены в эксперименте *in vivo* от лабораторных животных (крысы). Условия содержания экспериментальных животных соответствовали нормативному документу «Правила лабораторной практики в Российской Федерации (GLP)» (утв. Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 N 267).

Описание токсикологического эксперимента. В эксперименте были использованы 3 группы белых нелинейных крыс-самцов со средней массой тела 270 ± 24 г по 12 особей в каждой: животным 1-й группы вводили зарин однократно подкожно в дозе 90 мкг/кг (0.5 ЛД₅₀), 2-й – зоман в дозе 45 мкг/кг (0.5 ЛД₅₀), 3-й – воду (контроль). Сразу после введения ФОВ половине животных каждой группы был введен антидот пеликсим однократно внутримышечно (в/м) в физрастворе из расчета 100 мкл/100 г веса тела животного (соответствует ~5-кратной дозе для человека). Отбор проб крови производили через 3 часа, 1, 3, 7 и 30 суток, отбор мочи – 1, 3 и 7 суток после начала токсикологического эксперимента.

Оборудование и условия проведения инструментального анализа.

1. Определение активности АХЭ биохимическим методом проводили по процедуре, детально описанной в работе [14].

2. Определение в плазме крови и эритроцитах зарина и зомана, регенерированных из белковых аддуктов с помощью фторид-иона, проводили методом газовой хроматографии (ГХ) – тандемной масс-спектрометрии (МС/МС) [15, 16].

3. Определение алкилметилфосфоновых кислот в моче проводили методом жидкостной хроматографии (ЖХ) – тандемной масс-спектрометрии (МС/МС) в режиме высокого разрешения [17].

Результаты и обсуждение. В рамках настоящих исследований методами биохимического анали-

за регистрировали снижение каталитической активности ацетилхолинэстеразы эритроцитов, методами химического анализа определяли маркеры ФОВ: в плазме крови и эритроцитах – зарин и зоман, регенерированные из белковых аддуктов с помощью фторид-иона, в моче – О-изопротилметилфосфонат и О-пинаколилметилфосфонат, продукты гидролиза зарина и зомана, соответственно.

Возможности биохимических методов анализа при отравлении ФОВ G-типа с применением антидотной терапии.

В токсикологии ФОВ основным биохимическим критерием интоксикации остается ингибирование АХЭ. Результаты определения активности АХЭ мембран эритроцитов, выделенных из цельной крови крыс, отравленных ФОВ G-типа и сразу же получивших антидот, представлены на рисунке 3. Зоман и зарин, введенные животным в эквитоксических дозах (0,5ЛД₅₀), оказывают практически одинаковое ингибирующее действие на активность АХЭ мембран эритроцитов вплоть до 7 дней после отравления, когда активность АХЭ была снижена на ~20% по отношению к контрольным значениям. Указанный временной интервал можно считать предельным для биохимических методов при установлении факта отравления ФОВ G-типа.

Как и следовало ожидать, результат действия антидота наиболее выражен на самом раннем сроке отбора проб после отравления (1-й день). Применение антидота ожидаемо оказалось более действенным в случае зарина, чем зомана. Очевидно, это связано с более быстрым «старением» (деалкилированием) комплексов ХЭ с зоманом, что делает их недоступными для реактивации. Необходимо отметить, что мы не обнаружили отличий в активностях АХЭ контрольных животных и тех животных, которым вводили только антидот (данные не показаны).

Определение ФОВ, регенерированных из состава белковых аддуктов фторид-ионом

Основное преимущество хромато-спектральных методов анализа перед биохимическими заключается в возможности установления точной структуры ОВ, послужившего причиной интоксикации, если маркер содержит структурные фрагменты для индивидуальной идентификации ОВ. Методы определения ФОВ, регенерированных из состава аддуктов с белками крови, позволяют непосредственно идентифицировать химический фактор, важны для диагностики и активно развиваются [15,18]. Метод реактивирования был успешно применен для анализа образцов сыворотки крови жертв террористической атаки секты АУМ Синрике в Токийском метро и трагедии в Мацумото, при этом уровень зарина в сыворотке крови пострадавших был в пределах 0,2 –

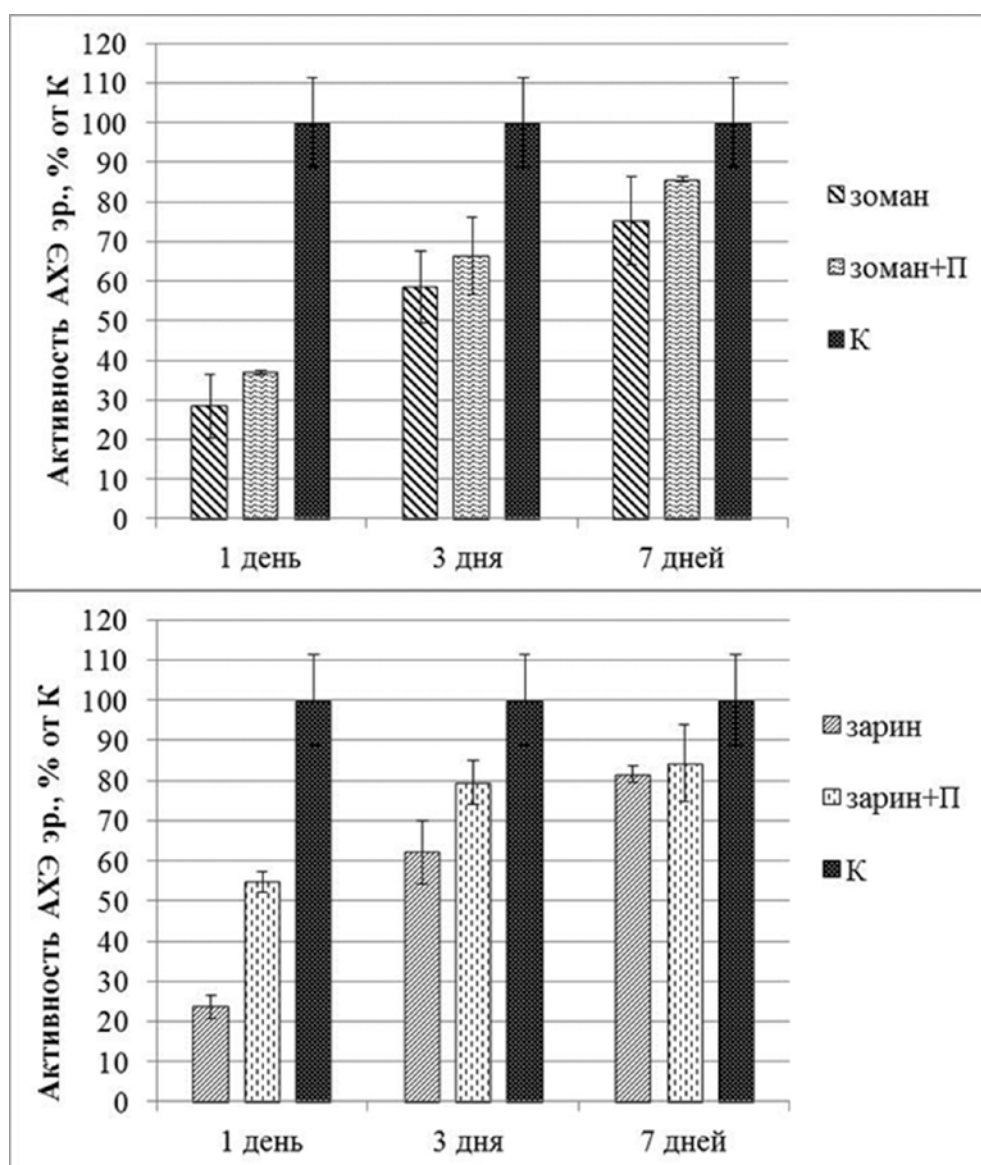


Рис. 3. Восстановление активности АХЭ мембран эритроцитов с течением времени после введения животным ФОВ в дозе $0,5LD_{50}$ с применением и без применения пеликсима (П) ($P < 0,05$)

4,1 нг/мл и 1,8 – 2,7 нг/мл, соответственно [19,20]. Позднее метод реактивирования применили для анализа образцов цельной крови и органов морских свинок после ингаляционной экспозиции заринном ($1,6 \text{ мг/м}^3$) и циклозаринном ($1,47 \text{ мг/м}^3$) в течение 60 мин (доза $0,4 \times LC_{50}$) [21]. Методика измерений массовых концентраций ФОВ, реактивированных из состава аддуктов, в плазме крови методом газовой хромато-масс-спектрометрии [16] была апробирована в анализе образцов плазмы крови, полученных после отравления крыс в дозе $0,5LD_{50}$ без применения и на фоне применения антидота (табл.1). Предел обнаружения регенерированных ФОВ в плазме крови составляет $0,25 \text{ нг} \times \text{см}^{-3}$.

Ожидается максимальная концентрация реактивированных ФОВ отмечена в первой по времени токсико-кинетической точке – через 3 часа после отравления крыс дозой $0,5LD_{50}$. Несмотря на то, что доза зарина выше эквитоксической дозы зомана в 2 раза по массе и почти в 3 раза по молярности, массовое содержание реактивированного зомана в образцах плазмы крови на 2 порядка выше по сравнению с заринном. Это можно объяснить гораздо более высокой (в 6 раз) величиной коэффициента распределения октанол – вода (P) зомана (1,8) по сравнению с заринном (0,3) [22], что обуславливает более эффективное его извлечение из плазмы при подготовке пробы к анализу. Вторым важным обстоятельством является его высокое сродство к сайтам Садлоу 1 (Tyr150) и Садлоу 2 (Tyr411) альбумина [23,24], с первым из которых зоман не образует, а со вторым образует устойчивый и при этом «не стареющий» ковалентный аддукт [25,26]. Для получения дополнительных доказательств этих предположений следует провести сравнительную оценку сродства зарина, зомана и реактиваторов, которые имеют отрицательный LogP [22], к сайтам альбумина методами молекулярного моделирования. Пока можно лишь полагать, что при обработке плазмы фторид-ионом в кислой среде свободные ФОВ могут высвобождаться из состава аддуктов не только с ХЭ, но и с другими белками плазмы.

Через 1-7 суток после отравления содержание реактивированного зомана в образцах плазмы крови животных, получивших антидот, примерно в 3 раза ниже, чем у животных без антидотной терапии. В случае отравления заринном влияние

Таблица 1

Результаты определения (нг/мл) зарина и зомана, регенерированных из состава белковых аддуктов плазмы крови после отравления в дозе 0.5ЛД₅₀ без применения и с применением антидотной терапии пеликсимом (P<0,05)

Время после отравления	Зарин (n=6)		Зоман (n=6)	
	Зарин	Зарин, пеликсим	Зоман	Зоман, пеликсим
3 часа	3.8	2.1	248.0	229.0
1 день	0.3	0.3	138.0	49.0
3 дня	0.3	0.3	30.0	8.0
7 дней	< 0.25	< 0.25	1.0	0.3

Таблица 2

Результаты определения (нг/мл) зарина и зомана, регенерированных из состава белковых аддуктов фракции эритроцитов после отравления крыс ФОВ в дозе 0.5ЛД₅₀ (P<0,05)

Время после отравления	Зарин (n=6)	Зоман (n=6)
3 часа	1.4	152.0
1 день	0.8	3.8
3 дня	< 0,25	1.5
7 дней	< 0,25	0.5

антидотной терапии на реактивацию отмечено только через 3 часа после отравления. Содержание зарина в исследованных образцах плазмы крови через сутки после отравления снижается на порядок и остается на этом уровне до 3-х суток, в то время как содержание зомана даже через 3 суток все еще остается на достаточно высоком уровне. Через 7 суток после отравления зоман идентифицирован в плазме крови в условиях антидотной терапии и без нее на уровне 0,3 нг/мл и 1 нг/мл, соответственно. Зарин определяется максимум через 3 суток после отравления.

Полученные результаты интересно сопоставить с данными [27] о реактивации зарина и зомана, связанных в экспериментах *in vivo* с молекулярными мишенями в тканях и плазме крови морских свинок, крови макак-резус, а также в экспериментах *in vitro* с альбумином и другими белками плазмы человека. При отравлении морских свинок заринном в дозе 0,05 ЛД₅₀ уровень ФОВ, реактивированного из белков плазмы крови, составил 1 нг/мл. При отравлении зоманом в дозе 2ЛД₅₀ (животные перед введением ОВ получили пиридогистамин, после – атропин и пралидоксим) реактивация ФОВ из ткани почек через 48 часов после экспозиции составила 147 нг/г. Зоман в дозе 2ЛД₅₀ обусловил концентрацию ФОВ в плазме

крови макак на уровне 2.4 нг/мл через 3 дня после отравления. Из пяти тканей и органов морских свинок (плазма, сердце, печень, почки, легкие) наибольшее количество реактивированных ФОВ было выявлено в легких и почках, а уровень реактивированного зомана был выше уровня зарина при отравлении эквитоксическими дозами. По мнению авторов исследования, основным источником реактивированных ФОВ G-типа служат их аддукты с карбоксилэстеразой, не исключая при этом вклад аддуктов с другими белками (ХЭ, альбумин, белки соединительной ткани). Через 7 дней после отравления макак-резус зоманом из мембранной фракции лизированных эритроцитов было реактивировано 0.5 нг/мл, тогда как из белков плазмы крови менее 0.1 нг/мл.

В таблице 2 представлены результаты определения регенерированных ФОВ G-типа в образцах эритроцитарной массы, полученной в наших экспериментах после интоксикации крыс ФОВ в дозе 0.5ЛД₅₀ без применения антидотной терапии.

Содержание регенерированного зомана в образцах эритроцитарной массы через 3 часа после отравления было зафиксировано на уровне 150 нг/мл и уже через сутки после отравления составляло только 3.8 нг/г, в то время как в плазме

ме крови все еще оставалось на достаточно высоком уровне ~140 нг/мл. В отличие от зомана, значимых различий в содержании регенерированного зарина в образцах эритроцитарной массы и плазмы крови животных не выявлено. Ранее было показано, что зоман аккумулируется в ткани легких, а из клеток крови эритроциты являются основным «депо» зомана [28]. Кроме того, было установлено, что распределение ФОВ по органам и тканям организма хорошо коррелирует (0.8) с их гидрофобностью [29]. Наши данные свидетельствуют о высокой степени сродства зомана к белкам плазмы крови, роль которых в токсикодинамике зомана требует дополнительного изучения. Представления о главенствующей роли эритроцитов в депонировании ФОВ G-типа после дополнительной экспериментальной проверки могут оказаться преувеличенными.

Определение алкилметилфосфоновых кислот в моче

Определение низкомолекулярных продуктов гидролиза ФОВ в моче – алкилметилфосфоновых кислот (АМФК), является одним из наиболее простых способов установления факта воздействия ФОВ на организм [30]. Алкилметилфосфоновые кислоты (АМФК), а именно О-изопропилметилфосфоновая кислота (ИМФК) и О-пинаколилметилфосфоновая кислота (ПМФК) являются маркерами воздействия зарина и зомана, соответственно. В структуре АМФК содержится достаточно информации для идентификации исходного ОВ, поэтому их идентификация в биосредах может рассматриваться в качестве однозначного подтверждения экспозиции определенным ФОВ. Будучи достаточно стабильными, АМФК, тем не менее, могут претерпевать в организме дальнейший гидролиз и превращаться в метилфосфоновую кислоту (МФК). Метилфосфоновая кислота является конечным продуктом гидролиза всех соединений группы ФОВ и, таким образом, может служить универсальным маркером ФОВ, однако, в ее структуре отсут-

ствует элемент (алкильная группа), специфический для конкретного вещества и необходимый для установления структуры действующего ФОВ [31].

Экскреция с мочой – основной путь вывода метаболитов ФОВ из организма. Гораздо меньшее количество выводится с калом или образует ковалентные связи с белками. По данным [32], 90% от общего количества метаболитов ФОВ выводится в первые 48 – 72 часа после отравления. При обследовании жертв террористических атак, а также ряда экспериментов с животными [33] было показано, что максимальный уровень экскреции ИМФК после ингаляционного поражения сублетальной (0.13-0.25 мг/кг) и более низкой (0.016-0.032 мг/кг) дозами зарина и этилзарина наблюдается через 12 ч после воздействия, максимальный уровень экскреции МФК – через 10-18 часов [34]. Содержание ИМФК в моче пострадавшего в результате поражения заринном при террористическом акте в Мацумото составляло 0.76, 0.08 и 0.01 мкг/мл через 1, 3 и 7 суток после отравления, соответственно, а концентрация МФК – 0.14 и 0.02 мкг/мл, через 1 и 3 суток, соответственно [35]. В работе [36] ПМФК была обнаружена в образцах мочи марышек через 11 дней после внутримышечного введения зомана в дозе 0.5 ЛД₅₀ на уровне 0.2 нг/мл.

Методика измерений массовых концентраций О-алкилметилфосфонатов в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-селективным детектированием [17] была применена к анализу образцов мочи, полученных после отравления крыс в дозе 0.5ЛД₅₀ без применения и на фоне применения антидота (табл. 3). Предел обнаружения АМФК составляет 0.1 нг·см³.

Профили экскреции ИМФК в случае антидотной терапии и в ее отсутствие различаются (P<0,05), в то время как для ПМФК существенных отличий не обнаружено. Через 24 ч после отравления заринном содержание ИМФК в моче животных, получивших антидот, как минимум в 3

Таблица 3

Результаты определения (нг/мл) ИМФК и ПМФК в образцах мочи, полученных после отравления крыс ФОВ G-типа в дозе 0.5 ЛД₅₀ без применения и с применением антидотной терапии пеликсимом (P<0,05)

Время после отравления	Зарин (n=6)		Зоман (n=6)	
	Зарин	Зарин + пеликсим	Зоман	Зоман + пеликсим
1 сут	55.0	15.3	53.0	44.0
3 сут	< 1.0	4.9	12.0	14.0
7 сут	< 1.0	< 1.0	< 0.1	< 0.1

раза ниже в сравнении с образцами мочи, полученными от животных без антидотной терапии. Через 3 суток после отравления заринном ИМФК обнаруживается только в образцах мочи животных, получивших антидот. Содержание ПМФК в группе с антидотом на 15-20% ниже через сутки и на 15-20% выше через 3 суток после отравления зоманом, однако эти отличия имеют лишь характер тенденции ($P > 0.05$). Установлено, что АМФК являются основными метаболитами зарина и зомана и выделяются с мочой по ненасыщающему механизму, но полупериод элиминации зарина существенно короче – 3,7 ч, и практически весь зарин выводится с мочой в виде метаболитов, тогда как у зомана двухфазная кривая элиминации с полупериодами 18.5 и 3.6 ч, а выход метаболитов составляет 62% [28]. Можно предположить, что выявленная нами картина замедленного выведения ИМФК с мочой в случае применения пеликсима после отравления заринном, наряду с отсутствием существенных изменений в действии пеликсима на реактивацию зарина из белков плазмы крови, обусловлена прежде всего близкими коэффициентами распределения зарина и реактиватора в составе пеликсима, который переводит зарин и/или ИМФК в более гидрофобную фазу с последующим замедленным выведением ИМФК через почки. С этим также может быть связано выраженное холинолитическое действие пеликсима при отравлении животных заринном, тогда как эффективность пеликсима при отравлении зоманом очень мала.

Заключение. В рамках проведенного токсикологического эксперимента (экспонирование животных ФОВ с антидотной терапией и без нее), определены ретроспективные возможности биохимических и химических методов установления факта отравления ФОВ. Отличия при реализации биохимического метода оценки активности АХЭ мембран эритроцитов выявлены вплоть до 7 суток после отравления. Применение пеликсима позволяет ускорить процесс восстановления активности АХЭ эритроцитов только при отравлении заринном, что связано, вероятно, с более медленным старением ХЭ при ингибировании их заринном, по сравнению с зоманом. Замедление элиминации с мочой ИМФК в случае применения пеликсима, очевидно, связано с близкими коэффициентами распределения зарина и реактиватора в составе пеликсима, который переводит зарин и/или ИМФК в более гидрофобную фазу. Пределы возможностей химических методов ретроспективного анализа при регенерации ФОВ G-типа из состава белковых аддуктов плазмы крови крыс фторид-ионом существенно выше по сравнению с возможностями анализа продуктов гидролиза ФОВ в моче и составляют: при отравлении зоманом в дозе $0.5LD_{50}$ – 7 дней без

применения терапии и 3 дня с применением терапии; при отравлении заринном в дозе $0.5LD_{50}$ – 3 дня без применения и с применением терапии. Наши данные свидетельствуют о высокой степени сродства зомана к белкам плазмы крови, и прежде всего роль альбумина, участие которого в токсикокинетике и токсикодинамике зомана требует дополнительного изучения.

Сравнительная токсикокинетика и токсикодинамика различных ФОВ, а также эффективность антидотной терапии зависят от ряда факторов, среди которых отметим молярное количество эквитоксических доз ФОВ, гидрофильно-гидрофобные и кислотно-основные свойства молекул, их размеры и конфигурацию, заряд и пр. Также важны особенности абсорбции и распределения ФОВ и антидотов, транспорта и взаимодействия со вторичными мишенями, обратимость связывания с белками [37,38]. Кроме того, при интерпретации полученных данных следует учитывать видовые особенности лабораторных животных, в частности, иметь в виду, что карбоксилэстеразы (КЭ) имеют широкую субстратную специфичность и взаимодействуют с ФОВ. Наибольшая активность КЭ обнаружена в тонком кишечнике, печени, моноцитах/макрофагах, а грызуны отличаются высокой активностью КЭ в плазме крови [39,40]. Ранее было установлено, что степень ингибирования КЭ *in vivo* эквитоксическими дозами ФОВ прямо пропорциональна отношению k_i для КЭ и АХЭ, следовательно, обратно пропорциональна токсичности ФОВ [41]. Высокая липофильность зомана предопределяет его взаимодействие с более гидрофобными мишенями (напр., сайт Садлоу 1 альбумина) [23,26], тогда как очень высокая скорость старения аддуктов с АХЭ обуславливает их стойкое ингибирование.

В дальнейших исследованиях токсикокинетики ФОВ на фоне терапии антидотами необходимо принимать во внимание следующие факторы: 1) физико-химические характеристики ФОВ; 2) видовые особенности спектра белков крови – потенциальных мишеней ФОВ; 3) видовые особенности структуры мажорных белков крови (напр., альбумина). Только такой подход позволит решить основные задачи трансляционной медицины: экстраполировать данные, полученные в экспериментах с животными, на человека и прогнозировать применительно к человеку эффективность аналитических методов исследования.

Благодарность. Авторы выражают глубокую признательность канд.биол.наук Войтенко Н.Г. за участие в проведении токсикологического эксперимента на лабораторных животных, инженеру Коневой В.Ю. за подготовку проб к ГХ анализу.

Работа выполнена в рамках государственного контракта по заказу ФМБА России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и об его уничтожении, русская версия // Технический Секретариат Организации по Запрещению Химического Оружия. 2005; 181 с.
2. Prokofieva D.S., Voitenko N.G., Gustyleva L.K., Babakov V.N., Savelieva E.I., Jenkins R.O., Goncharov N.V. Microplate spectroscopic methods for determination of the organophosphate soman // J. Environ. Monit. 2010; 12(6): 1349-54.
3. Prokofieva D.S., Jenkins R.O., Goncharov N.V. Microplate biochemical determination of Russian VX: Influence of admixtures and avoidance of false negative results. Anal Biochem. 2012; 424(2):108-13.
4. Sparty J.L.S., Lemire S.R., Jakubowski E.M., Renner J.A., Evans R.A., Williams R.F., Schmidt J.G., Van der Schans M.J., Noort D., Johnson R. Immunomagnetic separation and quantification of butyrylcholinesterase nerve agent adducts in human serum // Anal. Chem. 2010; 82(15): 6593-600.
5. Read R.W., Riches J.R., Stevens J.A., Stubbs S.J., Black R.M. Biomarkers of organophosphorous nerve agent exposure: comparison of phosphorylated butyrylcholinesterase and phosphorylated albumin after oxime therapy // Archives of toxicology. 2010; 84(1): 25-36.
6. Краснов И.А., Подольская Е.П., Гончаров Н.В., Бабаков В.Н., Глашклина Л.М., Ермолаева Е.Е., Дубровский Я.А., Прокофьева Д.С., Войтенко Н.Г., Смолихина Т.И., Поляков Н.Б., Радилев А.С., Краснов Н.В. Изменения спектра производных фибринопептида в плазме крови при действии О-изобутил-S-(2-диэтиламиноэтил)метилтиофосфоната. // Научное приборостроение. 2008; 18(4): 29-36.
7. Бабаков В.Н., Подольская Е.П., Гончаров Н.В., Глашклина Л.М., Краснов И.А., Поляков Н.Б., Войтенко Н.Г., Прокофьева Д.С., Краснов Н.В., А.С. Радилев. Новые маркеры интоксикации фосфорорганическими соединениями в пептидной фракции плазмы крови крыс // Токсикологический вестник. 2010; 2: 31-38.
8. Black R.M. Historical and perspectives of bioanalytical methods for chemical warfare // J. of chromatography B. 2010; 878: 1207-1215.
9. Worek F., Thiermann H., Szinciz L., Eyer P. Kinetic analysis of interactions between human acetylcholinesterase, structurally different organophosphorus compounds and oximes // Biochem. Pharmacol. 2004; 68: 2237-2248.
10. Юдин М.А., Быков В.Н., Никифоров А.С., Сарана М.А. Особенности проявления нехолинергического действия блокаторов центральных мускариновых рецепторов. Токсикологический Вестник. 2014; 2: 10-15.
11. Петров А.Н., Софронов Г.А., Нечипоренко С.П., Сомин И.Н. Антидоты фосфорорганических отравляющих веществ // Рос. хим. ж. 2004; 48 (2): 110-116.
12. Петренко Э.П. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита. Учебное пособие. (<http://www.studfiles.ru/preview/2361721/>), актуально на 26.12.2016)
13. «Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита» / Под ред. С.А. Куценко. - С.А. Куценко. - СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2004
14. Корягина Н.Л., Савельева Е.И., Уколов А.И., Прокофьева Д.С., Хлебникова Н.С., Орлова Т.И., Уколова Е.С., Радилев А.С., Гончаров Н.В. Возможности химико-токсикологического анализа при моделировании острого отравления веществом VR и антидотной терапии карбоксимом // Токсикологический вестник. 2016; 2: 8 - 18.
15. Корягина Н.Л., Савельева Е.И., Хлебникова Н.С., Копейкин В.А., Конева В.Ю., Радилев А.С. Особенности анализа фосфорорганических отравляющих веществ, реактивированных из состава аддуктов с белками крови при установлении факта воздействия химического оружия // Токсикологический вестник. 2014; 4: 39-46.
16. Савельева Е.И., Корягина Н.Л., Копейкин В.А., Сорокоунов П.Н., Конева В.Ю. Методика измерений массовых концентраций фосфорорганических веществ, реактивированных из состава аддуктов, в плазме крови методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Свидетельство об аттестации № 222.02255/01.00258/2014 от 22.10.14 г.
17. Каракашев Г.В., Криворотова Н.В., Морозова Т.Е., Корягина Н.Л., Савельева Е.И., Копейкин В.А. Методика измерений массовых концентраций О-алкилметилфосфонатов в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-селективным детектированием. Свидетельство об аттестации № 222.0183/01.00258/2012 от 02.08.2012. Фр. 1.39.2012.13710.
18. Савельева Е.И., Густылева Л.К., Орлова Т.И., Хлебникова Н.С., Корягина Н.Л., Радилев А.С. Современные методы идентификации и количественного определения фосфорорганических отравляющих веществ (Обзор) // Журнал прикладной химии. 2014; 87 (8):1017-1027.
19. Polhuijs M., Langenberg J.P., Benschop H.P. New method for retrospective detection of exposure to organophosphorus anticholinesterases: application to alleged sarin victims of Japanese terrorists. Toxicol Appl Pharmacol. 1997;146: 156-161.
20. Polhuijs M., Langenberg J.P., Noort D., Hulst AG, Benschop H.P. Retrospective detection of exposure to organophosphates: analyses in blood of human beings and rhesus monkeys. In: Sohns T, Voicu VA, eds. NBC Risks: Current Capabilities and Future Perspectives for Protection. Dordrecht, Holland, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 1999: 513-521
21. McGuire M., Jakubowski E.M., Thomson Jr.S.A. Monitoring of Biological Matrices by GC-MS-MS for Chemical Warfare Nerve Agent Detection // Spectroscopy. 2011; Special Issues Apr 01: 1-7.
22. Voicu VA, Bajgar J, Medvedovici A, Radulescu FS, Miron DS. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of some oximes and associated therapeutic consequences: a critical review. J Appl Toxicol. 2010; 30(8):719-29.
23. Белинская Д.А., Шураков В.И., Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В. Исследование связывания зомана с альбумином методами молекулярного моделирования // Токсикологический вестник. 2012; 6: 13-19.
24. Белинская Д.А., В.И. Шураков, Д.С. Прокофьева, Н.В. Гончаров. Сывороточный альбумин: поиск новых сайтов взаимодействия с фосфорорганическими соединениями на примере зомана // Биоорганическая химия. 2014; 40(5): 541-549.
25. Краснов И.А., Подольская Е.П., Гончаров Н.В., Бабаков В.Н., Глашклина Л.М., Ермолаева Е.Е., Дубровский Я.А., Прокофьева Д.С., Войтенко Н.Г., Смолихина Т.И., Поляков Н.Б., Радилев А.С., Краснов Н.В. Идентификация аликирированного аддукта сывороточного альбумина человека методами масс-спектрометрии. // Научное приборостроение. 2008; 18(4): 46-53.
26. Гончаров Н.В., Д.А. Белинская, А.В. Разыграев, А.И. Уколов. О ферментативной активности альбумина // Биоорганическая химия. 2015; 41(2): 131-144.
27. Adams T.K., Capaccio B.R., Smith J.R., Whalley C.E, Korte W.D. The application of the fluoride reactivation process to the detection of sarin and soman nerve agent exposures in biological samples // Drug chem. toxicol. 2004; 27(1): 77-91.
28. Shih ML, McMonagle JD, Dolzine TW, Gresham VC. Metabolite pharmacokinetics of soman, sarin and GF in rats and biological monitoring of exposure to toxic organophosphorus agents. J Appl Toxicol. 1994; 14(3):195-9.
29. Czerwinski SE, Skvorak JP, Maxwell DM, Lenz DE, Baskin SI. Effect of octanol:water partition coefficients of organophosphorus compounds on biodistribution and percutaneous toxicity. J Biochem Mol Toxicol. 2006;20(5):241-6.
30. Корягина Н.Л., Савельева Е.И., Хлебникова Н.С., Уколов А.И., Уколова Е.С., Каракашев Г.В., Радилев А.С. Хромато-масс-спектрометрическое определение алкилметилфосфонатов в моче // «Масс-спектрометрия». 2015; 12(4): 236-246.
31. Munro N. B., Talmage S.S., Griffin L.C., Waters A.P., Watson A.P., King J.F., Hauschild V. The sources, fate, and toxicity of chemical warfare agent degradation products // Environ. Health Perspect. 1999; 107(12): 933-974.
32. Riches J., Morton I., Read R.W., Black R.M. The trace analysis of alkyl alkylphosphonic acids in urine using gas chromatography-ion trap negative ion tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B. 2005. 816 (1-2): 251-258.
33. Noort D., Hulst A.G., Platenburg D.H.J.M., Polhuijs M., Benschop H.P. Quantitative analysis of O-isopropyl methylphosphonic acid in serum samples of Japanese citizens allegedly exposed to sarin: estimation of internal dosage // Arch. Toxicol. 1998; 72 (10): 671-675.
34. Minami M., Hui D-M, Katsumata M., Inagaki H., Boulet C.A. Method for the analysis of methylphosphonic acid metabolites of sarin and its ethanolic-substituted analogue in urine as applied to the victims of the Tokyo sarin disaster // J.Chromatogr. B. 1997; 695(2): 237-244.
35. Nakajima T., Sasaki K., Ozawa H., Sekijima Y., Morita H., Fukushima Y. and Yanagisawa N. Urinary metabolites of sarin in a patient of the Matsumoto sarin incident // Arch. Toxicol. 1998; 72(9): 601-603.
36. Riches J., Morton I, Read RW, Black RM. The trace analysis of alkyl alkylphosphonic acids in urine using gas chromatography-ion trap negative ion tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2005; 816(1-2): 251-258.
37. Voicu VA, Thiermann H, Radulescu FS, Mircioiu C, Miron DS. The toxicokinetics and toxicodynamics of organophosphonates versus the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oxime antidotes: biological consequences. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2010 Feb;106(2):73-85.
38. Гончаров Н.В., Прокофьева Д.С., Сорокоунов П.Н. Взаимодействие химических веществ с белками плазмы крови: методологические проблемы фармако- и токсикокинетики // Токсикологический вестник. 2013; 4: 11-16.
39. Xie S, Borazjani A, Hatfield MJ, Edwards CC, Potter PM, Ross MK. Inactivation of lipid glyceryl ester metabolism in human THP1 monocytes/macrophages by activated organophosphorus insecticides: role of carboxylesterases 1 and 2. Chem Res Toxicol. 2010; 23(12):1890-1904.
40. Нурдков И.Д., Шураков В.И., Надеев А.Д., Войтенко Н.Г., Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В. «Экстренный статус» организм при воздействии токсических веществ и препаратов // Токсикологический вестник. 2012; 6: 6-13.
41. Maxwell DM. The specificity of carboxylesterase protection against the toxicity of organophosphorus compounds. Toxicol Appl Pharmacol. 1992;11

REFERENCES:

1. Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on their Destruction // Available at: <https://www.opcw.org/chemical-weapons-convention> (accessed 21 February 2017).
2. Prokofieva D.S., Voitenko N.G., Gustyleva L.K., Babakov V.N., Savelieva E.I., Jenkins R.O., Goncharov N.V. Microplate spectroscopic methods for determination of the organophosphate soman // J. Environ. Monit. 2010; 12(6): 1349-54.
3. Prokofieva D.S., Jenkins R.O., Goncharov N.V. Microplate biochemical determination of Russian VX: Influence of admixtures and avoidance of false negative results. Anal Biochem. 2012; 424(2):108-13.
4. Sparty J.L.S., Lemire S.R., Jakubowski E.M., Renner J.A., Evans R.A., Williams R.F., Schmidt J.G., Van der Schans M.J., Noort D., Johnson R. Immunomagnetic separation and quantification of butyrylcholinesterase nerve agent adducts in human serum // Anal. Chem. 2010; 82(15): 6593-600.
5. Read R.W., Riches J.R., Stevens J.A.,

6. Stubbs S.J., Black R.M. Biomarkers of organophosphorous nerve agent exposure: comparison of phosphorylated butyrylcholinesterase and phosphorylated albumin after oxime therapy // Archives of toxicology. 2010; 84(1): 25-36.
6. Krasnov I.A., Podolskaia E.P., Goncharov N.V., Babakov V.N., Glashkina L.M., Ermolaeva E.E., Dubrovskii Ya.A., Prokofieva D.S., Voitenko N.G., Smolihina T.I., Polyakov N.V., Radilov A.S., Krasnov N.V. [Changes of spectra of fibrinopeptide derivatives in plasma by the action of the O-isobutyl-S-(2-diethylaminoethyl)-methylthiophosphonate]. Nauchnoe priborostrenie. 2008; 18(4): 29-36 (in Russian).
7. Babakov V.N., Podolskaia E.P., Goncharov N.V., Glashkina L.M., Krasnov I.A., Polyakov N.B., Voitenko N.G., Prokofieva D.S., Krasnov N.V., Radilov A.S. [New markers of intoxication by organophosphorus compounds in the peptide fraction of rat plasma]. Toksikologicheskii vestnik. 2010; 2: 31-38 (in Russian).
8. Black R. M. Historical and perspectives of

- bioanalytical methods for chemical warfare // J. of chromatography B. 2010; 878: 1207-1215.
9. Worek F., Thiermann H., Szinciz L., Eyer P. Kinetic analysis of interactions between human acetylcholinesterase, structurally different organophosphorus compounds and oximes // Biochem. Pharmacol. 2004; 68: 2237-2248.
10. Yudin M.A., Bykov V.N., Nikiforov A.S., Sarana M.A. [Specific manifestations of non-cholinolytic action of central muscarinic receptors blockers]. Toksikologicheskii vestnik. 2014; 2: 10-15 (in Russian).
11. Petrov A.N., Sofronov G.A., Nechiporenko S.P., Somin I.N. Antidotes organophosphorus agents // // Russian chemical journal. 2004; 48 (2): 110-116. (in Russian).
12. Petrenko E.P. Military toxicology, radiobiology and medical protection. Tutorial // Available at: <http://www.studfiles.ru/preview/2361721/> (accessed 21 February 2017) (in Russian).
13. S.A. Kutchenko «Military toxicology, radiobiology and medical protection». Sankt

- Petersburg: OOO «Publishing office Foliant», 2004. (in Russian).
14. Koriagina N.L., Savelieva E.I., Ukolov A.I., Prokofieva D.S., Khebnikova N.S., Orlova T. I., Ukolova E.S., Radilov A.S., Goncharov N.V. Possibilities of chemical toxicological analysis for modeling acute poisoning with VR and antidotal therapy with carboxim // Toksikologicheskii vestnik. 2016; 2: 8-18 (in Russian).
15. Koriagina N.L., Savelieva E.I., Khebnikova N.S., Kopeikin V.A., Koneva V.Yu., Radilov A.S. [Features of the analysis of organophosphorus agents, reactivated from the adducts with blood proteins in determining of chemical weapons]. Toksikologicheskii vestnik. 2014; 4: 39-46 (in Russian).
16. Savel'eva E.I., Koriagina N.L., Kopeikin V.A., Sorokoumov P.N., Koneva V.Yu. Procedure for the Determination of Mass Concentrations of Organophosphorus Compounds, Reactivated from the Adducts in Blood Plasma by GC-MS. Certificate of Attestation N

- 222.0255/01.00258/2014 October 22, 2014 г. (in Russian).
17. Karakashev G.V., Krivorotova N.V., Morozova T.E., Koryagina N.L., Savel'eva E.I., Kopeykin V.A. Procedure for the Determination of Mass Concentrations of O-Alkyl Methyl Phosphonates in Urine by High-Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass – Selective Detection. Certificate of Attestation N 222.0183/01.00258//2012, August 02.08.2012, FR.1.39.2012.13710 (in Russian).
18. Savel'eva E.I., Gustyleva L.K., Orlova O.I., Khlebnikova N.S., Koryagina N.L., Radilov A.S. Modern Methods for Identification and Quantitative Determination of Organophosphorus Chemical Warfare Agents // Russian Journal of Applied Chemistry. 2014; 87 (8):1003-1012.
19. Polhuijs M, Langenberg JP, Benschop HP. New method for retrospective detection of exposure to organophosphorus anticholinesterases: application to alleged sarin victims of Japanese terrorists. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1997;146: 156–161.
20. Polhuijs M, Langenberg JP, Noort D, Hulst AG, Benschop HP. Retrospective detection of exposure to organophosphates: analyses in blood of human beings and rhesus monkeys. In: Sohns T, Voicu VA, eds. *NBC Risks: Current Capabilities and Future Perspectives for Protection.* Dordrecht, Holland, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 1999: 513-521
21. McGuire M., Jakubowski E.M., Thomson Jr.S.A. Monitoring of Biological Matrices by GC-MS-MS for Chemical Warfare Nerve Agent Detection // *Spectroscopy.* 2011; Special Issues Apr 01: 1-7.
22. Voicu VA, Bajgar J, Medvedovici A, Radulescu FS, Miron DS. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of some oximes and associated therapeutic consequences: a critical review. *J Appl Toxicol.* 2010; 30(8):719-29.
23. Belinskaia D.A., Shmurak V.I., Prokofieva D.S., Goncharov N.V. [Research of soman binding to albumin with molecular modeling]. *Toksikologicheskii vestnik.* 206: 13-19 (in Russian).
24. Belinskaia D.A., Shmurak V.I., Prokofieva D.S., Goncharov N.V. Serum Albumin: Search for New Sites of Interaction with Organophosphorus Compounds by the Example of Soman. *Bioorg Khim.* 2014; 40 (5): 499-5D0I: 10.1134/S1068162014050033
25. Krasnov I.A., Podolskaia E.P., Goncharov N.V., Babakov V.N., Glashkina L.M., Ermolaeva E.E., Dubrovskii Ya.A., Prokofieva D.S., Voitenko N.G., Smolihina T.I., Polyakov N.B., Radilov A.S., Krasnov N.V. [Changes of spectra of fibrinopeptide derivatives in plasma by the action of the O-isobutyl-S-(2-diethylaminoethyl)-methylthiophosphonate]. *Nauchnoe priborostrenie.* 2008; 18(4): 29-36 (in Russian).
26. Goncharov N.V., Belinskaya D.A., Rasygraev A.V., Ukolov A.I. On the enzymatic activity of albumin // *Bioorg Khim.* 2015; 41(2): 131-1
27. Adams T.K., Capacio B.R., Smith J.R., Whalley C.E, Korte W.D. The application of the fluoride reactivation process to the detection of sarin and soman nerve agent exposures in biological samples // *Drug chem. toxicol.* 2004; 27(1): 77-91.
28. Shih ML, McMonagle JD, Dolzine TW, Gresham VC. Metabolite pharmacokinetics of soman, sarin and GF in rats and biological monitoring of exposure to toxic organophosphorus agents. *J Appl Toxicol.* 1994; 14(3):195-9.
29. Czerwinski SE, Skvorak JP, Maxwell DM, Lenz DE, Baskin SI. Effect of octanol:water partition coefficients of organophosphorus compounds on biodistribution and percutaneous toxicity. *J Biochem Mol Toxicol.* 2006;20(5):241-6.
30. Koryagina N.L., Savel'eva E.I., Khlebnikova N.S., Ukolov A.I., Ukolova E.S., Karakashev G.V., Radilov A.S. [Chromatography/mass spectrometry determination of alkyl methylphosphonic acids in urine]. *Mass-spektrometriya.* 2015; 12(4): 236-246 (in Russian).
31. Munro N. B., Talmage S.S., Griffin L.C., Waters A.P., Watson A.P., King J.F., Hauschild V. The sources, fate, and toxicity of chemical warfare agent degradation products // *Environ. Health Perspect.* 1999; 107(12): 933-974.
32. 32.Riches J., Morton I., Read R.W., Black R.M. The trace analysis of alkyl alkylphosphonic acids in urine using gas chromatography-ion trap negative ion tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 20816 (1-2): 251-258.
33. 33.Noort D., Hulst A.G., Platenburg D.H.J.M., Polhuijs M., Benschop H.P. Quantitative analysis of O-isopropyl methylphosphonic acid in serum samples of Japanese citizens allegedly exposed to sarin: estimation of internal dosage // *Arch. Toxicol.* 1998; 72 (10): 671-675.
34. Minami M., Hui D-M, Katsumata M., Inagaki H., Boulet C.A. Method for the analysis of methylphosphonic acid metabolites of sarin and its ethanol-substituted analogue in urine as applied to the victims of the Tokyo sarin disaster // *J.Chromatogr. B.* 1997; 695(2): 237-244.
35. Nakajima T., Sasaki K., Ozawa H., Sekijima Y., Morita H., Fukushima Y. and Yanagisawa N. Urinary metabolites of sarin in a patient of the Matsumoto sarin incident // *Arch. Toxicol.* 1998; 72(9): 601-603.
36. Riches J, Morton I, Read RW, Black RM. The trace analysis of alkyl alkylphosphonic acids in urine using gas chromatography-ion trap negative ion tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005; 816(1-2): 251-258.
37. Voicu VA, Thiemann H, Radulescu FS, Mircioiu C, Miron DS. The toxicokinetics and toxicodynamics of organophosphonates versus the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oxime antidotes: biological consequences. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2010 Feb;106(2):73-85.
38. Goncharov N.V., Prokofieva D.S., Sorokoumov P.N. Interaction of chemical substances with blood plasma proteins: methodological problems of pharmacokinetics // *Toksikologicheskii vestnik.* 2013; 4: 11-16 (in Russian).
39. Xie S, Borazjani A, Hatfield MJ, Edwards CC, Potter PM, Ross MK. Inactivation of lipid glyceryl ester metabolism in human THP1 monocytes/macrophages by activated organophosphorus insecticides: role of carboxylesterases 1 and Chem Res Toxicol. 2010; 23(12):1890-1904.
40. Kurdiukov I.D., Shmurak V.I., Nadeev A.D., Voitenko N.G., Prokofieva D.S., Goncharov N.V. [“Esterase status” of the body when exposed to toxic substances and pharmaceuticals]. *Toksikologicheskii vestnik.* 2012; 6: 6-13 (in Russian).
41. Maxwell DM. The specificity of carboxylesterase protection against the toxicity of organophosphorus compounds. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1992; 114(2):306-312.

N.L. Koryagina, E.I. Savelieva, D.S. Prokofieva, N.S. Khlebnikova, G.V. Karakashev, E.S. Ukolova, A.S. Radilov, N.V. Goncharov

PECULIARITIES OF METABOLITES TOXICOKINETICS OF G-TYPE ORGANOPHOSPHORUS NERVE AGENTS IN BIO FLUIDS OF RATS SUBJECTED TO ANTIDOTE THERAPY

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Medical Biological Agency of Russia, settlement Kuz'molovskiy, Vsevolozhsk District, Leningrad Region, 188663 Russia

The effect of the Pelixim antidote on the possibility to detect markers of G type nerve agents sarin and soman was studied in bio probes obtained in an acute in vivo experiment after exposure of rats to organophosphorus nerve agents in doses of 0.5LD₅₀. It was found out that the intake of equitoxic doses of soman and sarin leads to a decrease of acetylcholinesterase erythrocyte membrane (AChE) activity for up to 7 days after exposure. The effect of Pelixim on the recovery of erythrocyte AChE activity is mostly pronounced a day after sarin poisoning. The fluoride regeneration of nerve agents from blood plasma protein adducts was possible for up to 7 days after soman poisoning without antidotal therapy and for 3 days after with antidotal therapy; in case of sarin intoxication, fluoride regeneration was possible for 3 days regardless of the use of antidotal therapy. The antidote strongly affected the excretion of hydrolytic metabolite of sarin O-isopropyl methylphosphonic acid (IMPA) and had no effect on the excretion of hydrolytic metabolite of soman O-pinacolyl methylphosphonic acid (PMPA). A day after poisoning and Pelixim injection, IMPA was detected in urine at a level of 15.3 ng/ml, whereas its level in the urine samples of animals in the absence of antidotal therapy was 55.0 ng/ml; 3 days after poisoning, IMPA was detected at a level of 4.9 ng/ml exclusively in the urine of animals subjected to antidotal therapy. The urine levels of PMPA in animals subjected and not subjected to antidotal therapy were respectively 44 and 53 ng/ml a day after poisoning and 12 and 14 ng/ml respectively 3 days after poisoning. Thus, the antidote impact on the excretion profile of hydrolytic metabolites is more significant for sarin than that of soman.

Keywords: chemical toxicological analysis; organophosphorus nerve agents; sarin; soman; cholinesterases; markers; gas chromatography–mass spectrometry; antidotal therapy.

Материал поступил в редакцию 03.03.2017 г.