

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Toxicological Review*



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

№ 3 (138), 2016

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

- А.А. Дударев, Е.В. Душкина, Ю.Н. Сладкова, В.С. Чупахин, Л.А. Лукичева**  
УРОВНИ ЭКСПОЗИЦИИ К СТОЙКИМ ОРГАНИЧЕСКИМ ЗАГРЯЗНИТЕЛЯМ (СОЗ) НАСЕЛЕНИЯ ПЕЧЕНГСКОГО РАЙОНА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ.....2
- П.Г. Толкач, В.А. Башарин, А.А. Колобов, Н.Ю. Роговская, В.Н. Бабаков**  
ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА КК1 НА СОДЕРЖАНИЕ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСЛЕ ОСТРОЙ ТЯЖЁЛОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ОКСИДОМ УГЛЕРОДА ..... 10
- Д.А. Халютин, Т.С. Соловьёва, В.Л. Рейнюк, А.А. Ховпачев, В.С. Чирский, А.Е. Антушевич, А.Н. Гребенюк**  
МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТАНОЛОМ И ИХ КОРРЕКЦИИ ПЕПТИДНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ..... 15
- Е.В. Плешакова, М.В. Каневский, С.И. Юлаева, А.А. Галицкая, С.А. Коннова, О.В. Семьячкина-Глушковская**  
ДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И СВЕТОВОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ..... 22
- В.В. Шилов, В.А. Лукин, А.Ю. Андрианов**  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЛАЗМАФЕРЕЗА С ПОМОЩЬЮ ИНФУЗИОННОГО АНТИГИПОКСАНТА ЦИТОФЛАВИНА ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ АЗАЛЕПТИНОМ ..... 28
- Е.В. Полозова, В.В. Шилов, А.С. Богачева, Е.В. Давыдова**  
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ УГАРНЫМ ГАЗОМ ..... 38
- Т.В. Харченко, Л.Г. Аржавкина, А.В. Язенок, Д.И. Синячкин, А.Н. Жекалов**  
ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ПЕРСОНАЛА ОБЪЕКТОВ ХРАНЕНИЯ И УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ.... 41
- О.Л. Заикина, В.В. Шилов, А.Н. Лодягин, А.М. Григорьев**  
ОСОБЕННОСТИ ОБНАРУЖЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНТАНИЛА В МОЧЕ МЕТОДАМИ ГАЗОВОЙ И ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ..... 46
- Из практики
- В.В. Шилов, А.Н. Лодягин, В.А. Лукин, Л.П. Пивоварова, А.Ю. Андрианов, Б.В. Батоцыренов, М.М. Ермолаева, О.А. Кузнецов, С.И. Глушков, С.А. Повзун, О.Э. Заев**  
ОСТРОЕ ПЕРОРАЛЬНОЕ ОТРАВЛЕНИЕ ХЛОРИДОМ НАТРИЯ (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)..... 47
- Экологическая токсикология
- Г.А. Папченкова**  
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ИМИДАКЛОПРИДСОДЕРЖАЩИХ ИНСЕКТИЦИДОВ НА DAPHNIA MAGNA ..... 52
- Съезды, конференции, совещания ..... 57
- A.A. Dudarev, E.V. Dushkina, Y.N. Sladkova, V.S. Chupakhin, L.A. Lukicheva**  
EXPOSURE LEVELS OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS (POPS) AMONG POPULATION OF THE PECHENGA DISTRICT IN THE MURMANSK REGION .....2
- P.G. Tolkach, V.A. Basharin, A.A. Kolobov, N.Yu. Rogovskaya, V.N. Babakov**  
EFFECT OF KK1 PEPTIDE ON MAINTENANCE OF APOPTOSIS MARKERS IN RATS BRAIN CAUSED BY SEVERE CARBON OXIDE POISONING ..... 10
- D.A. Halyutin, T.S. Solovyeva, V.L. Reinyuk, A.A. Hovpachev, V.S. Chirski, A.E. Antushevich, A.N. Grebenyuk**  
MORPHOLOGICAL EVALUATION IN EXPERIMENT OF BRAIN DAMAGES IN ACUTE POISONING WITH ETHANOL AND THEIR CORRECTION WITH PEPTIDE DRUGS ..... 15
- E.V. Pleshakova, M.V. Kanevskiy, S.I. Yulaeva, A.A. Galitskaya, S.A. Konnova, O.V. Semyachkina-Glushkovskaya**  
EFFECT OF CHEMICAL FACTORS AND LIGHT STRESS ON BLOOD PARAMETERS OF LABORATORY ANIMALS..... 22
- V.V. Shilov, V.A. Lukin, A.U.Andrianov**  
PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF PLASMAPHERESIS EFFECTIVENESS USING INFUSION OF CYTOFLAVIN ANTIHYPOXANT IN ACUTE POISONING BY AZALEPTINI ..... 28
- E.V. Polozova, V.V. Shilov, A.S. Bogacheva, E.V. Davydova**  
EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF HYPERBARIC OXYGENATION IN ACUTE CARBON MONOXIDE POISONING..... 38
- T.V. Kharchenko, L.G. Arjavkina, A.V. Yazenok, D.A. Siniachkin, A.N. Zhekalov**  
GENOTOXIC ALTERATIONS IN THE PERSONNEL OF CHEMICAL STOCKPILE DISPOSAL FACILITIES..... 41
- O.L. Zaikina, V.V. Shilov, A.N. Lodyagin, A.M. Grigor'ev**  
SPECIFICITIES OF DETECTION OF FENTANYL DERIVATES IN URINE USING METHODS OF LIQUID AND GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY ..... 46
- From the Practice
- V.V. Shilov, A.N. Lodyagin, V.A. Lukin, L.P. Pivovarova, A.Y. Andrianov, B.V. Batotsyrenov, M.M. Ermolaeva, O.A. Kuznetsov, S.I. Glushkov, S.A. Povzun, O.E. Zaev**  
ACUTE ORAL POISONING WITH SODIUM CHLORIDE (CLINICAL OBSERVATION) ..... 47
- Ecotoxicology
- G.A. Papchenkova**  
COMPARATIVE EVALUATION OF TOXICITY OF IMIDACLOPRID-BASED INSECTICIDES TO DAPHNIA MAGNA..... 52
- Congresses, conferences, meetings..... 57

УДК 547-3 : 615.917 : 618.3

## УРОВНИ ЭКСПОЗИЦИИ К СТОЙКИМ ОРГАНИЧЕСКИМ ЗАГРЯЗНИТЕЛЯМ (СОЗ) НАСЕЛЕНИЯ ПЕЧЕНГСКОГО РАЙОНА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

А.А. Дударев<sup>1</sup>, Е.В. Душкина<sup>1</sup>,  
Ю.Н. Сладкова<sup>1</sup>, В.С. Чупахин<sup>1</sup>,  
Л.А. Лукичева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья», 191036,  
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Мурманской области, 183038,  
г. Мурманск, Российская Федерация

**В** рамках международного проекта КолАрктик «Безопасность пищи и здоровье в приграничных районах России, Финляндии и Норвегии» в Печенгском районе Мурманской области осенью 2013 проведен отбор 100 проб крови у мужчин, женщин и беременных. Из 40 анализировавшихся (в лаборатории северо-западного филиала НПО «Тайфун») в плазме крови СОЗ детектируемыми были ГХБ, группа ГХЦГ, группа ДДТ и группа ПХБ. В группе ГХЦГ доминирует бета-изомер; альфа-ГХЦГ выявляется в 28% проб крови женщин; гамма-ГХЦГ – у 50% женщин и у 22% беременных. Присутствие изомеров ГХЦГ в крови обследованных однозначно связано с иными (отличными от местных продуктов питания) источниками, т.к. в местной пище ГХЦГ отсутствует. В группе ДДТ преобладают 4,4ДДЕ и 4,4ДДТ; остальные метаболиты встречаются редко. При этом у 22% беременных обнаружен 4,4ДДД, что свидетельствует о вероятном наличии бытового «свежего» источника ДДТ в родильном отделении п.Никель. Средние уровни ГХБ, бета-ГХЦГ, 4,4ДДЕ, 4,4ДДТ среди обследуемых находятся в диапазоне 0,13-1,4 мкг/л плазмы крови. Из пятнадцати конгенов ПХБ, анализировавшихся в крови обследованных лиц трех групп населения, наибольший «вклад» в суммарный ПХБ вносят конгены: #118 (17-25%), #138 и #153 (по 11-17%), #52 (10-14%) и #101 (8-9%). В целом долевая «палитра» конгенов ПХБ в крови обследованного населения соответствует таковой в местных пищевых продуктах. Средние уровни суммарного ПХБ в обследованных группах населения невелики – около 1 мкг/л плазмы у беременных и около 1,5 мкг/л плазмы у мужчин и женщин. Ни у кого из обследованных (включая беременных) не выявлено превышений международных рекомендуемых уровней содержания в крови суммарного ПХБ. Содержание ГХБ, 4,4ДДЕ и ПХБ#153 в крови населения Печенгского р-на – самое низкое в сравнении с другими Арктическими регионами РФ (от Мурманской области до Чукотки), а среди беременных женщин – аналогично таковому в соседней северной Норвегии.

**Ключевые слова:** стойкие органические загрязнители, СОЗ, ГХБ, ГХЦГ, ДДТ, конгены ПХБ, экспозиция, плазма крови, беременные, рекомендуемые уровни, уровень беспокойства, уровень действий, Мурманская область, Российская Арктика.

**Введение.** Наши исследования в рамках международного проекта КолАрктик «Безопасность пищи и здоровье в приграничных районах России, Финляндии и Норвегии», стартовавшего осенью 2013 года в Печенгском районе Мурманской области, подверженном влиянию промышленных выбросов комбината «Печенганикель» ОАО «Кольской горно-металлургической компании», позволили изучить содержание стойких органических загрязнителей (СОЗ) в местных пищевых продуктах животного происхождения [2]. Актуальность нынешнего фрагмента исследований определяется тем, что экспозиция

**Дударев Алексей Анатольевич (Dudarev Alexey Anatolievich)**, доктор медицинских наук, руководитель отдела гигиены ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья», 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, alexey.d@inbox.ru

**Душкина Евгения Валерьевна (Dushkina Eugenia Valerievna)**, аспирант отдела гигиены ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья», 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, dushka9005@mail.ru

**Сладкова Юлия Николаевна (Sladkova Yulia Nikolaevna)**, научный сотрудник отдела гигиены ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья», 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, sladkova.julia@mail.ru

**Чупахин Валерий Сергеевич (Chupakhin Valeriy Sergeevich)**, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отдела гигиены ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья», 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, valeriy.chupakhin@gmail.com

**Лукичева Лена Александровна (Lukicheva Lena Alexandrovna)**, кандидат медицинских наук, руководитель Управления Роспотребнадзора по Мурманской области, 183038, г. Мурманск, Российская Федерация, adm@murmancpotrebнадzor.ru

к СОЗ населения Печенгского района, проживающего в зоне промышленного загрязнения и потребляющего местные пищевые продукты и воду местных водоисточников, прежде никогда не оценивалась.

*Целью исследования* являлась оценка содержания СОЗ в крови обследуемого населения и сопоставление выявленных концентраций поллютантов с международными рекомендуемыми уровнями.

**Материалы и методы исследования.** Протокол исследований был одобрен решением локального Этического комитета при ФБУН СЗНЦ гигиены и общественного здоровья (IRB0006281; Протокол № 31 от 22.07.2013 г.). Отбор проб крови проводился в два этапа: 1) во время экспедиционного выезда в сентябре 2013 г. – среди общего населения п.Никель, где из 200 проанкетированных лиц каждый четвертый сдавал кровь; в итоге сформировалась случайная выборка численностью 50 человек, 2) в период с ноября 2013 г. до марта 2014 г. – среди беременных женщин, проживающих в Печенгском районе и поступивших в родильное отделение п.Никель (куда заблаговременно были доставлены необходимые расходные материалы и был проведен инструктаж акушеров и среднего медперсонала); обследовались все беременные (в третьем триместре), и к марту 2014 г. набралась выборка в 50 человек. Всего было отобрано 100 персональных проб крови.

Характеристика обследованных групп населения. Все обследованные – этнические русские. Среди общего населения п.Никель обследовано 18 мужчин (средний возраст 39,9 лет, диапазон 27-54 лет) и 32 женщины (средний возраст 45,2 лет, диапазон 26-65 лет). Все 50 обследованных имели стаж проживания в п.Никель не менее 20 лет (исходное условие для участия в исследовании), что предполагает многолетнее формирование у резидентов баланса экспозиции к СОЗ, прежде всего за счет потребления местной пищи и воды. Все обследованные мужчины работают на руднике Каула-Котсельваара (основные профессии: горный инженер, горный мастер, горнорабочий, проходчик, машинист электровоза, электрослесарь); 75% обследованных женщин – работники местных детских садов и школ (основные профессии: воспитатель, педагог, повар, медсестра, бухгалтер). Таким образом, имеется возможность сравнения уровней экспозиции группы мужчин, как «производственников» и группы женщин, как работников, не связанных с производством. Стаж работы на различных предприятиях п.Никель в обеих группах существенно варьируется от 3 до 40 с лишним лет.

Среди обследованных в родильном отделении п.Никель 50 беременных женщин (средний возраст 29,2 лет, диапазон 21-42 лет) 54% проживают

в п.Никель и 46% – в г.Заполярный. 30% всей численности беременных – безработные, основные профессии остальных 70%: воспитатель, продавец, врач, медсестра, кладовщик.

Отбор и подготовка проб крови. Отбор проб крови производился (после получения от обследуемых добровольного письменного согласия) из локтевой вены с помощью вакутайнеров Becton Dickinson (США), обработка крови – с использованием пипеток Sarstedt (Германия) и виал Supelco (США). У каждого обследуемого было отобрана проба цельной крови, из которой после центрифугирования (3000 об/мин) получена проба плазмы крови. Транспортировка замороженных (при  $-20^{\circ}\text{C}$ ) образцов производилась в специальных термоконтейнерах.

Спектр анализируемых поллютантов. Образцы были доставлены в лабораторию Северо-Западного филиала НПО «Тайфун» (имеющей международный сертификат аккредитации на исследование СОЗ в биосредах человека), где был проведен химический анализ содержания в пробах плазмы крови сорока СОЗ: гексахлорбензол (ГХБ), 3 изомера гексахлорциклогексана ( $\beta$ -ГХЦГ,  $\alpha$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ), 6 метаболитов дихлордифенилтрихлорэтана (4.4ДДЕ, 4.4ДДТ, 2.4ДДЕ, 2.4ДДТ, 2.4ДДД, 4.4ДДД), 3 изомера тетрахлорбензола (1,2,3,4-ТХБ, 1,2,3,5-ТХБ, 1,2,4,5-ТХБ), пентахлорбензол, гептахлор, гептахлорэпоксид, транс-хлордан, цис-хлордан, транс-нонахлор, цис-нонахлор, альдрин, оксихлордан, фотомирекс, мирекс, 15 конгенов полихлорированных бифенилов (#28, #31, #52, #99, #101, #105, #118, #128, #138, #153, #156, #170, #180, #183, #187) и суммарный ПХБ. Результаты анализа были представлены в двух вариантах – концентрации поллютантов на единицу объема плазмы крови (мкг/л) и на единицу веса липидов (нг/г липидов).

Оценка полученных в ходе химического анализа данных о содержании СОЗ в крови обследованных лиц базировалась на их сопоставлении с международными рекомендуемыми уровнями. Современный международный регламент из исследуемого нами перечня персистентных хлороорганических соединений определяет рекомендуемые пределы только для суммы ПХБ; стандарты были разработаны в разные годы Министерством здравоохранения Канады (Health Canada) [7], Комиссией по биомониторингу человека Германии (НВМ Comission) [6] и Агентством по пище и безопасности здоровья в условиях окружающей и производственной среды Франции (ANSES) [3]. Рекомендуемые пределы содержания в крови ДДТ и ГХБ в последние годы интенсивно обсуждаются в мировой научной периодике, однако утвержденных регламентов по данным поллютантам пока нет.

**Результаты и обсуждение.** В таблице 1 представлены частоты детектирования СОЗ в плазме крови обследованных групп. Сразу необходимо отметить, что среди сорока анализируемых СОЗ детектируемыми оказались только ГХБ, группа ГХЦГ, группа ДДТ и группа ПХБ. Практически у всех обследованных в крови содержится ГХБ. В группе ГХЦГ доминирует бета-изомер (78-100% проб); альфа-изомер практически не детектируется у мужчин и беременных, а у женщин выявляется в 28% проб; гамма-изомер фактически отсутствует у мужчин, но определяется в половине проб крови женщин и 22% проб крови беременных. В группе ДДТ, как и следует ожидать, преобладают наиболее стойкий метаболит 4,4ДДЕ (100% всех проб) и собственно 4,4ДДТ (81-100% проб); остальные метаболиты встречаются редко, за исключением 2,4ДДЕ у женщин (16% проб) и беременных (22% проб) и 4,4ДДД у беременных (22% проб). Таким образом, среди мужчин детектируемость ГХБ, всех изомеров ГХЦГ и большинства метаболитов ДДТ наименьшая; среди женщин чаще регистрируются альфа и гамма изомеры ГХЦГ (28% и 50% соответственно) и 2,4ДДЕ (16%); среди беременных наиболее высок процент регистрации бета-ГХЦГ, 4,4ДДТ, 2,4ДДТ и, что особенно важно, 4,4ДДД (22%).

Относительно частая выявляемость у беременных столь редко регистрируемого в крови 4,4ДДД (метаболит, присутствующий в исходной технической смеси в очень малых количествах, и одновременно являющийся продуктом медленного распада 4,4ДДТ, а также имеющий самую низкую скорость выведения из организма человека) свидетельствует о вероятном наличии бытового «свежего» источника ДДТ в родильном отделении п.Никель (м.б. в составе каких-то инсектицидов). Присутствие в крови почти всех обследованных бета-ГХЦГ и достаточно высокий процент детектирования альфа и гамма изомеров ГХЦГ среди женщин и гамма изомеров среди беременных, также наводит на мысль о присутствии иных (отличных от местных продуктов питания) источников экспозиции к ГХЦГ. Ранее проведенный анализ местной пищи жителей Печенгского района [2] показал полное отсутствие всех трех изомеров ГХЦГ во всех местных продуктах животного происхождения. Присутствие значительных концентраций СОЗ в бытовых средствах борьбы с насекомыми было подробно описано нами ранее [4, 1] по результатам исследований на Чукотке в 2001-2003 гг.

Частота детектирования ПХБ в крови обследованных лиц также весьма различна. В крови обследованных лиц всех трех групп преобладают (табл. 1) восемь конгенов ПХБ (из пятнадцати исследованных): планарный три-хлорирован-

ный #28, непланарный тетра-хлорированный #52, непланарные пента-хлорированные #99 и #101, планарные диоксиноподобные пента-хлорированные #105 и #118, непланарные гекса-хлорированные #138 и #153.

В таблицах 2 и 3 представлены средние и максимальные концентрации СОЗ и ПХБ (минимальные значения не приведены, т.к. они, как правило, находятся ниже предела детектирования). Соотношение средних или максимальных концентраций каждого из поллютантов, выраженное в мкг/л плазмы у мужчин, женщин и беременных, может не соответствовать соотношению концентраций, выраженных в нг/г липидов, т.к. индивидуальные различия в содержании липидов крови существенно влияют на расчетные величины.

Средние уровни ГХБ и 4,4ДДЕ в трех сравниваемых группах (табл. 2) мало отличаются (в пределах 20-40%); средние уровни бета-ГХЦГ наиболее высоки у женщин (в 2 и 3 раза выше в сравнении с мужчинами и беременными соответственно); средние уровни 4,4ДДТ у женщин вдвое ниже, чем у мужчин и беременных. При этом максимальные концентрации практически всех СОЗ выявляются у беременных.

Средние уровни отдельных конгенов ПХБ (табл. 3) также характеризуются слабыми различиями в сравниваемых группах, при этом максимальные уровни конгенов регистрируются у мужчин. Средние уровни суммарного ПХБ невелики – около 1 мкг/л плазмы у беременных и около 1,5 мкг/л плазмы у мужчин и женщин. Максимум суммарного ПХБ составляет 3,2 мкг/л (у беременных), а рассчитанный на липидный вес – 753 нг/г липидов (у мужчин).

Конгенерный состав суммарного ПХБ в крови населения Печенгского района представлен в таблице 4.

Наибольший «вклад» в суммарный ПХБ для всех групп населения (табл. 4) дает #118 конгенер (17-25%), далее следуют конгены #138 и #153 (11-17%), #52 (10-14%) и #101 (8-9%); меньшие доли составляют #28 (6-7%), #99 (4-6%), #105 (5-7%), #180 (6-9%); ничтожно малый «вклад» дают конгены #156, #128, #170 и #187; вовсе не детектируются #31 и #183. В целом долевая «палитра» конгенов ПХБ в крови обследованного населения соответствует таковой в местных пищевых продуктах [2], за исключением #28 конгенера, незначительная доля которого была выявлена лишь в глухаре и семге, а в других продуктах данный конгенер не определялся.

При сопоставлении уровней экспозиции к ПХБ обследованных групп населения (табл. 2) с рекомендуемыми уровнями содержания в крови суммарного ПХБ (табл. 5) следует констатировать, что ни у кого из обследованных (вкл. бере-

Таблица 1

**Частота детектирования СОЗ в плазме крови (% лиц с наличием в плазме крови детектируемых концентраций СОЗ) населения Печенгского района**

	Мужчины, %	Женщины, %	Беременные, %
ГХБ	94	100	100
β-ГХЦГ	78	91	100
α- ГХЦГ	6	<b>28</b>	2
γ-ГХЦГ	6	<b>50</b>	<b>22</b>
4.4 ДДЕ	100	100	100
4.4 ДДТ	94	81	100
2.4 ДДЕ	6	16	10
2.4 ДДТ	-	3	6
2.4 ДДД	-	-	-
4.4 ДДД	-	3	<b>22</b>
ПХБ			
#28	67	<b>81</b>	40
#31	-	-	-
#52	78	<b>94</b>	56
#99	61	75	68
#101	89	94	80
#105	83	78	52
#118	89	100	100
#156	6	<b>13</b>	-
#128	-	<b>19</b>	-
#138	89	94	100
#153	89	97	100
#170	<b>28</b>	9	8
#180	<b>67</b>	<b>56</b>	30
#183	-	-	-
#187	6	16	16
∑ПХБ	94	100	100

менных) не выявлено превышений рекомендуемых уровней ни по какому из трех используемых в международной практике регламентов. Даже выявленные максимальные уровни суммарного ПХБ не достигают рекомендуемого уровня «беспокойства» (3,5 мкг/л) или «критического» поро-

га (700 нг/г липидов) для женщин репродуктивного возраста и, тем более, 20 мкг/л или 1800 нг/г липидов для мужчин.

Географические различия экспозиции к СОЗ населения Арктики. Печенгский р-н Мурманской области граничит с Норвегией, п.Никель

Таблица 2

**Концентрации основных СОЗ в плазме крови (мкг/л плазмы и нг/г липидов) населения Печенгского района**

		ГХБ	β-ГХЦГ	α-ГХЦГ	γ-ГХЦГ	4.4 ДДЕ	4.4 ДДТ	2.4 ДДЕ	4.4 ДДД	2.4 ДДТ
<b>мужчины</b>										
мкг/л плазмы	сред	0,24	0,22	-	-	1,05	0,27	-	-	-
	макс	0,74	0,55	0,17	0,06	3,36	0,70	0,33	-	-
нг/г липидов	сред	51,2	53,8	-	-	216,5	56,1	-	-	-
	макс	189,0	111,9	30,0	8,1	940,0	131,9	72,0	-	-
<b>женщины</b>										
мкг/л плазмы	сред	0,26	0,43	0,10	0,13	1,37	0,13	0,06	-	-
	макс	0,55	1,20	0,27	0,34	4,66	0,57	0,09	0,15	0,07
нг/г липидов	сред	35,9	64,3	12,6	20,7	171,3	21,9	8,5	-	-
	макс	74,4	<b>157,1</b>	18,9	44,0	537,7	123,9	12,3	19,2	14,8
<b>беременные</b>										
мкг/л плазмы	сред	0,20	0,15	-	0,10	1,28	0,24	0,05	0,15	-
	макс	2,22	1,31	0,09	0,46	8,56	3,11	0,07	0,34	0,08
нг/г липидов	сред	24,5	18,4	-	16,9	158,7	30,1	6,8	19,4	-
	макс	<b>251,6</b>	145,8	11,9	<b>55,8</b>	<b>1220,8</b>	<b>376,4</b>	8,9	34,2	16,7

Таблица 3

**Концентрации основных конгенов и суммы ПХБ в плазме крови (мкг/л плазмы и нг/г липидов) населения Печенгского района**

		#28	#52	#99	#101	#105	#118	#138	#153	#180	∑ПХБ
<b>мужчины</b>											
мкг/л плазмы	сред	0,14	0,24	0,1	0,14	0,13	0,26	0,25	0,25	0,19	1,58
	макс	0,22	0,56	0,15	0,27	0,26	0,66	0,72	0,64	0,42	2,94
нг/г липидов	сред	31,8	53,5	21,0	26,3	25,9	58,5	50,7	55,0	34,7	317,4
	макс	59,0	<b>113,0</b>	45,1	55,5	48,6	<b>133,9</b>	<b>106,4</b>	<b>141,3</b>	<b>106,2</b>	<b>753,0</b>
<b>женщины</b>											
мкг/л плазмы	сред	0,13	0,23	0,12	0,16	0,11	0,28	0,24	0,23	0,16	1,59
	макс	0,19	0,53	0,36	0,37	0,24	0,64	0,6	0,54	0,39	2,76
нг/г липидов	сред	20,6	35,4	17,5	23,2	14,8	39,5	32,3	31,3	19,9	219,1
	макс	37,0	86,9	<b>72,2</b>	<b>59,6</b>	52,9	94,2	74,9	61,0	56,5	456,0
<b>беременные</b>											
мкг/л плазмы	сред	0,06	0,1	0,09	0,09	0,08	0,25	0,11	0,13	0,05	0,98
	макс	0,28	0,42	0,45	0,34	0,55	0,99	0,46	0,4	0,47	<b>3,17</b>
нг/г липидов	сред	19,9	21,7	16,3	13,2	18,3	31,1	13,1	15,6	19,1	122,9
	макс	58,5	81,8	49,9	39,0	<b>66,6</b>	119,3	48,2	56,7	46,8	368,8

Таблица 4

**Долевой состав конгенов ПХБ (% от суммы ПХБ) в крови населения Печенгского района**

#ПХБ	мужчины	женщины	беременные
#28	6,2	6,9	6,1
#31	-	-	-
#52	12,5	<b>13,8</b>	9,8
#99	4,0	5,8	<b>9,4</b>
#101	8,1	9,4	9,1
#105	7,2	5,4	8,6
#118	17,2	17,8	<b>25,5</b>
#156	0,6	0,7	-
#128	-	<b>3,8</b>	-
#138	<b>16,3</b>	14,9	10,8
#153	16,8	14,6	13,1
#170	<b>2,1</b>	0,4	1,0
#180	<b>8,5</b>	5,7	4,8
#183	-	-	-
#187	0,4	0,8	<b>1,6</b>
∑ПХБ	100%	100%	100%

расположен вблизи государственной границы. Сравнительные данные по уровням ГХБ, 4,4ДДЕ и ПХБ#153 в крови беременных женщин Северной Норвегии (регион, объединяющий округа Нордланд, Тромс и Финнмарк) [5] и Печенгского р-на представлены в таблице 3.

Среднегеометрические концентрации ГХБ в крови беременных норвежек примерно вдвое ниже, чем в крови беременных россиянок, концентрации 4,4ДДЕ – втрое ниже (табл. 6), а уровни ПХБ#153 – наоборот, вдвое выше соответству-

ющих уровней у россиянок.

Для оценки географических различий уровней экспозиции к ГХБ, 4,4ДДЕ и ПХБ#153 мужчин, женщин и беременных различных регионов Российской Арктики (в сравнении с результатами нынешней работы) мы использовали данные, полученные в рамках GEF/АМАР проекта 2001-2004 годов [1,8] по коренному населению Ловозерского р-на Мурманской области, Ненецкого, Таймырского, Чукотского округов, Камчатки и Командорских островов; в г.Норильск были обследованы этнические русские беременные женщины. Сравнимые СОЗ являются в циркумполярном мире предметом изучения и мониторинга в качестве ключевых факторов глобальных процессов переноса поллютантов и экспозиции населения.

Сравнительный анализ содержания ГХБ, 4,4ДДЕ и ПХБ#153 в крови мужчин, женщин и беременных (рис. 1), проживающих в разных Арктических регионах РФ, показывает, что все три группы населения Печенгского р-на Мурманской области демонстрируют самые низкие уровни экспозиции ко всем трем поллютантам. Самые высокие уровни экспозиции к 4,4ДДЕ характерны для мужчин и женщин с.Ловозеро (Ловозерский р-н Мурманской области), к ГХБ – для мужчин и женщин Таймырского АО, к ПХБ#153 – для всех трех групп населения прибрежной Чукотки.

**Выводы:**

**1.** Из сорока анализировавшихся СОЗ детектируемыми в крови обследованных являлись только ГХБ (94-100% проб), группа ГХЦГ, группа ДДТ и группа ПХБ.

**2.** В группе ГХЦГ доминирует бета-изомер (78-100% проб); альфа-изомер практически не детектируется у мужчин и беременных, а у женщин выявляется в 28% проб; гамма-изомер фактически отсутствует у мужчин, но определяется в 50% проб крови женщин и 22% проб крови беременных.

**3.** Присутствие в крови почти всех обследованных бета-ГХЦГ и достаточно высокий процент детектирования альфа и гамма изомеров ГХЦГ среди женщин и гамма изомеров среди беремен-

Таблица 5

**Международные рекомендуемые уровни содержания в крови суммы ПХБ**

сумма ПХБ		уровень «беспокойства»		уровень «действий»		«критический» порог	
		ж<45 лет	М + ж >45 лет	ж<45 лет	М + ж >45 лет	ж<45 лет	М + ж >45 лет
Health Canada, 1994 [7]	мкг/л плазмы	5	20	100	100	-	-
German HBM, 2003[6]	мкг/л плазмы	3.5	-	7	-	-	-
French ANSES, 2010 [3]	нг/г липидов	-	-	-	-	700	1800

Таблица 6

**Концентрации некоторых СОЗ в крови беременных женщин Северной Норвегии и Печенгского р-на Мурманской области, нг/г липидов крови**

	ГХБ	4,4ДДЕ	ПХБ#153
<b>Северная Норвегия</b> (пробы отобраны в 2006-2008)			
среднегеом.	9,6	38,7	24,8
макс	53,3	351	201
<b>Печенгский р-н</b> (пробы отобраны в 2013-2014)			
среднегеом.	18,2	102	12,2
макс	252	1221	56,7

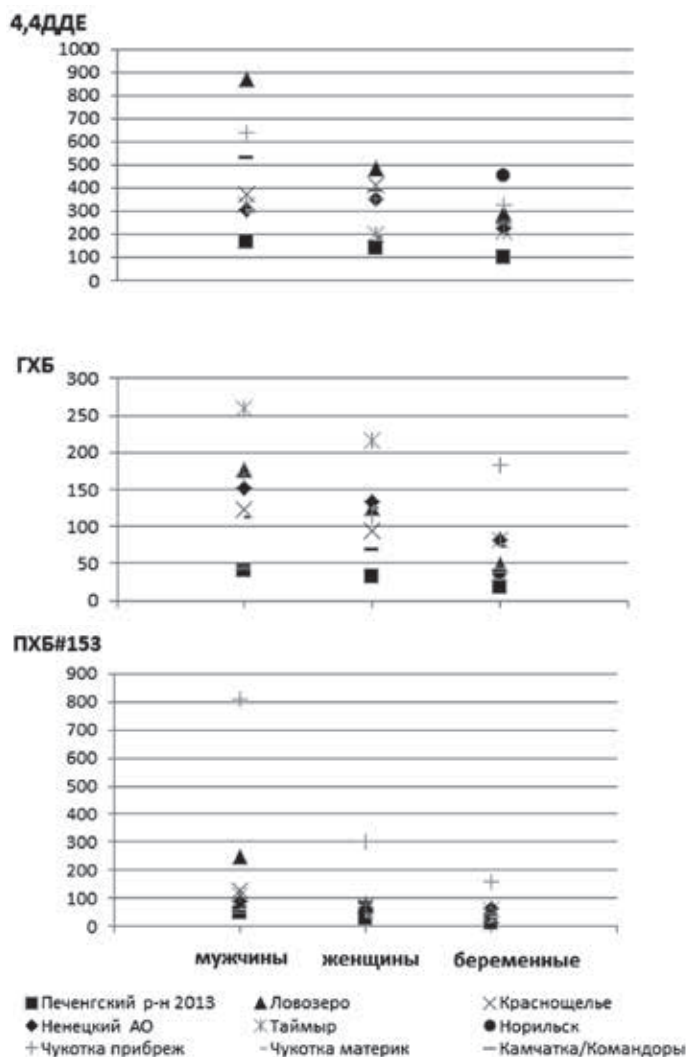
ных, однозначно связано с иными (отличными от местных продуктов питания) источниками экспозиции к ГХЦГ. Ранее проведенный анализ местной пищи жителей Печенгского района показал полное отсутствие всех трех изомеров ГХЦГ во всех местных продуктах животного происхождения.

4. В группе ДДТ преобладают 4,4ДДЕ (100% всех проб) и 4,4ДДТ (81-100% проб); остальные метаболиты встречаются редко, за исключением 2,4ДДЕ у женщин (16% проб) и беременных (22% проб) и 4,4ДДД у беременных (22% проб). Относительно частая выявляемость у беременных в крови 4,4ДДД свидетельствует о вероятном наличии бытового «свежего» источника ДДТ в родильном отделении п.Никель.

5. Средние уровни ГХБ (0,2-0,26 мкг/л плазмы) и 4,4ДДЕ (1-1,4 мкг/л) мало отличаются внутри трех сравниваемых групп; средние уровни бета-ГХЦГ (0,15-0,43 мкг/л) наиболее высоки у женщин; средние уровни 4,4ДДТ (0,13-0,27 мкг/л) у женщин вдвое ниже, чем у мужчин и беременных. При этом максимальные концентрации этих СОЗ выявляются у беременных.

6. Из пятнадцати анализировавшихся в крови обследованных лиц трех групп населения преобладают восемь конгенов ПХБ: #28, #52, #99, #101, #105, #118, #138 и #153. Наибольший «вклад» в суммарный ПХБ для всех групп населения вносят конгены: #118 (17-25%), #138 и #153 (по 11-17%), #52 (10-14%) и #101 (8-9%). В целом долевая «палитра» конгенов ПХБ в крови обследованного населения соответствует таковой в местных пищевых продуктах.

7. Средние уровни суммарного ПХБ в обследованных группах населения невелики – около 1 мкг/л плазмы у беременных и около 1,5 мкг/л плазмы у мужчин и женщин. Ни у кого из обследованных (включая беременных) не выявля-



**Рис.1.** Концентрации ГХБ, 4,4ДДЕ и ПХБ#153 в крови (нг/г липидов, среднегеометрические значения) трех групп населения Мурманской области (Печенгский р-н, с.Ловозеро и с.Краснощелье), Ненецкого АО, Таймырского АО, г.Норильска, Чукотского АО (прибрежные и материковые районы), Камчатки и Командорских островов [1,8].

Пояснения:

4,4ДДЕ – дихлородифенилдихлорэтилен;

ГХБ – гексахлорбензол;

ПХБ#153 – полихлорированный бифенил, конгенер №153;

Ось АБСЦИСС – три группы обследованного населения – мужчины, женщины и беременные;

Ось ОРДИНАТ – концентрации ГХБ, 4,4ДДЕ и ПХБ#153 в крови (нг/г липидов, среднегеометрические значения);

но превышений международных рекомендуемых уровней содержания в крови суммарного ПХБ.

8. Содержание ГХБ, 4,4ДДЕ и ПХБ#153 в крови населения Печенгского р-на – самое низкое в сравнении с другими Арктическими регионами РФ (от Мурманской области до Чукотки), а среди беременных женщин – аналогично таковому в соседней северной Норвегии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дударев А. А., Душкина Е. В., Сладкова Ю. Н., Бузова Д. В., Гушин И. В., Талькова Л. В. и др. Стойкие органические загрязнители (СОЗ) в местных продуктах питания Печенгского района Мурманской области. Токсикологический вестник. 2015;4(133):18-25.
2. Дударев А. А. Персистентные полихлорированные углеводороды и тяжелые металлы в арктической биосфере – основные закономерности экспозиции и репродуктивное здоровье коренных жителей. Биосфера. 2009;2:186-202.
3. ANSES, French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety. Guidelines on PCB. 2010.
4. Dudarev A.A. Household and occupational sources of exposure // Section 4.5 in Chapter 4 «Persistent toxic substances (PTS) sources and pathways» in the AMAP 2004: Persistent Toxic Substances, Food Security and Indigenous Peoples of the Russian North. Final Report. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway, 2004:78-80.
5. Gibson G.C., Adlard B., Olafsdottir K., Sandanger T.M. Levels and trends of contaminants in humans // Chapter 3 in the AMAP Assessment 2015: Human Health in the Arctic. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway, 2015:21-76.
6. HBM, Human Biomonitoring Commission (Kommission "Human Biomonitoring des Umweltbundesamtes). 2003. Aktualisierung der Referenzwerte für PCB-138, -153, -180 im Vollblut sowie Referenzwerte für HCB, b-HCH und DDE im Vollblut. Bundesgesundhbl 46, 161-168 (in German).
7. Health Canada. 1994. Human Health Risk Assessment for Priority Substances. Canada Communication Group, Ottawa, Canada.
8. Van Oostdam J, Donaldson SG. Human Tissue Levels of Environmental Contaminants // Chapter 5 in the AMAP Assessment 2009: Human Health in the Arctic. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway, 2009:61-110.

## REFERENCES:

1. Dudarev A.A. Persistent polychlorinated hydrocarbons and heavy metals in the Arctic biosphere – main regularities and reproductive health of indigenous people. Biosphere. 2009;2:186-202. (in Russian).
2. Dudarev A.A., Dushkina E.V., Sladkova Y.N., Buзова D.V., Gushin I.V., Talykova L.V. et al. Persistent organic pollutants (POPs) in local foods of Pechenga district of Murmansk oblast. Toxicological vestnik. 2015;(4 -133):18-25. (in Russian).
3. ANSES, French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety. Guidelines on PCB. 2010.
4. Dudarev A.A. Household and occupational sources of exposure // Section 4.5 in Chapter 4 «Persistent toxic substances (PTS) sources and pathways» in the AMAP 2004: Persistent Toxic Substances, Food Security and Indigenous Peoples of the Russian North. Final Report. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway, 2004:78-80.
5. Gibson G.C., Adlard B., Olafsdottir K., Sandanger T.M. Levels and trends of contaminants in humans // Chapter 3 in the AMAP Assessment 2015: Human Health in the Arctic. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway, 2015:21-76.
6. HBM, Human Biomonitoring Commission (Kommission "Human Biomonitoring des Umweltbundesamtes). 2003. Aktualisierung der Referenzwerte für PCB-138, -153, -180 im Vollblut sowie Referenzwerte für HCB, b-HCH und DDE im Vollblut. Bundesgesundhbl 46:161-168 (in German).
7. Health Canada. 1994. Human Health Risk Assessment for Priority Substances. Canada Communication Group, Ottawa, Canada.
8. Van Oostdam J, Donaldson SG. Human Tissue Levels of Environmental Contaminants // Chapter 5 in the AMAP Assessment 2009: Human Health in the Arctic. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway, 2009:61-110.

A.A. Dudarev<sup>1</sup>, E.V. Dushkina<sup>1</sup>, Y.N. Sladkova<sup>1</sup>, V.S. Chupakhin<sup>1</sup>, L.A. Lukicheva<sup>2</sup>

### EXPOSURE LEVELS OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS (POPs) AMONG POPULATION OF THE PECHENGA DISTRICT IN THE MURMANSK REGION

<sup>1</sup> Northwest Scientific Center for Hygiene and Public Health Center, 191036, St. Petersburg, Russian Federation;

<sup>2</sup> Department of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Well-being in the Murmansk Region, 183038, Murmansk, Russian Federation.

Within the framework of the international project Kolarctic «Food safety and health in the border areas of Russia, Finland and Norway» in the Pechenga district of the Murmansk Region, 100 blood samples were selected from men, women and gravidae in autumn 2013. In blood plasma of 40 persons analyzed in the laboratory of the Northwest branch of the Research and Production Enterprise «Typhoon» the following POPs were detectable: HCB, HCH Group, DDT and PCBs groups. In the HCH group, beta-isomer prevailed; alpha-HCH was detected in 28% of female blood samples; gamma-HCH – in 50% of women and in 22% of pregnant women. The presence of HCH isomers in the blood of examined individuals was uniquely associated with other nutrition sources (unlike local food) as HCH is not present in the local food. In DDT group, 4-4'-DDE and 4,4'-DDT dominated; other metabolites are rarely encountered. At the same time, 4'-4DDE was detected in 22% of pregnant women which gives evidence of a DDT probable domestic «fresh» source at the maternity ward in Nickel settlement. Mean levels of HCB, beta-HCH, 4,4'-DDE, 4,4'-DDT among examined individuals are ranged between 0.13 and 1.4mg /l in blood plasma. Of fifteen PCB congeners analyzed in the blood of examined persons from three population groups, the highest «contribution» to the total PCB is made by the following congeners: # 118 (17-25%), # 138 and # 153 (11-17% each), # 52 (10-14%) and # 101 (8-9%). In whole, share parts of PCB congeners in blood of the population examined correspond to those in local foodstuff. Average levels of total PCB in the population groups examined are not high – about 1mg /l in plasma of pregnant women and 1.5 mg /l in male and female plasma. None of individuals examined (including gravidae) showed an excess over international recommended levels of total PCB in blood. The content of HCB, PCBs 4,4'-DDE and PCB # 153 in the population blood in the Pechenga district is the lowest in comparison with other regions of the Russian Arctic areas (from the Murmansk region to Chukotka), and among the gravidae it is similar to that in neighboring northern Norway.

**Keywords:** persistent organic pollutants (POPs), HCB, HCH, DDT, PCB congeners, exposure, blood plasma, pregnant women, recommended levels, level of concern, exposure level, Murmansk Region, Russian Arctic.

Материал поступил в редакцию 17.05.2016 г.

# ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА КК1 НА СОДЕРЖАНИЕ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСЛЕ ОСТРОЙ ТЯЖЁЛОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ОКСИДОМ УГЛЕРОДА

П.Г. Толкач<sup>1</sup>, В.А. Башарин<sup>1</sup>, А.А. Колобов<sup>2</sup>,  
Н.Ю. Роговская<sup>3</sup>, В.Н. Бабаков<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБВОУВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, 197110, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup>ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский, Капитолово, Российская Федерация

**И**нтотоксикация оксидом углерода приводит к развитию отдалённых нарушений функций центральной нервной системы. Эти нарушения не могут быть связаны только с развитием гемической гипоксии. В ряде исследовательских работ были описаны неспецифические нейротоксические механизмы действия оксида углерода, одним из которых является активация программируемой клеточной гибели, развивающейся по типу апоптоза. Одним из препаратов, обладающих нейропротективным механизмом действия, является синтетический аналог последовательность адренокортикотропного гормона – пептид КК1. В данном исследовании лабораторные животные подвергались острой тяжёлой интоксикации оксидом углерода в дозе 0,8 LC<sub>50</sub> в течение 30 мин. Пептид КК1 вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг/сут в течение 5 дней. В гомогенатах головного мозга крыс исследовали содержание активных форм маркерных белков, ассоциированных с ранними стадиями апоптоза в различные сроки после интоксикации оксидом углерода. В результате проведённого исследования было установлено, что применение пептида КК1 приводит к снижению содержания активных форм белка p53 и протеинкиназы Akt1 на 7 и 14 сут после тяжёлого отравления оксидом углерода. Результаты проведённого эксперимента позволяют сделать предположение, что потенциальный механизм нейропротективного действия синтетического тетрапептида КК1 при данном виде патологии связан с ограничением развития апоптоза в головном мозге.

**Ключевые слова:** оксид углерода, нейротоксичность, апоптоз, протеинкиназа Akt1, белок p53, пептид КК1.

**Введение.** Интоксикация оксидом углерода (СО, угарный газ) является одной из ведущих причин летальных исходов от острых отравлений в России и мире [1,2]. Клинические проявления интоксикации СО могут варьировать от головной боли, тошноты и головокружения до угнетения сознания и летального исхода [3]. У половины пострадавших, подвергшихся тяжёлой интоксикации СО, после асимптоматического периода, могут развиваться отдалённые нарушения функ-

ций центральной нервной системы (ЦНС), варьирующие от лёгкого когнитивного дефицита до тяжёлой деменции, психозов, симптомов паркинсонизма и др. [4,5].

Основной механизм токсического действия СО заключается в развитии гемической гипоксии, вследствие образования карбоксигемоглобина (HbCO) [6]. Однако развитие гемической гипоксии не может в полной мере объяснить отдалённые нарушения, развивающиеся после от-

**Толкач Павел Геннадьевич (Tolkach Pavel Gennad'evich)**, капитан медицинской службы, ФГБВОУВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, pusher6@yandex.ru

**Башарин Вадим Александрович (Basharin Vadim Aleksandrovich)**, доктор медицинских наук, начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ФГБВОУВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, basharin@mail.ru

**Колобов Александр Александрович (Kolobov Aleksandr Aleksandrovich)**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией химии пептидов ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, 197110, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, kolobov@hpb-spb.com

**Роговская Надежда Юрьевна (Rogovskaya Nadezhda Yurevna)**, научный сотрудник ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский, Капитолово, Российская Федерация, niigrech@rihophe.ru

**Бабаков Владимир Николаевич (Babakov Vladimir Nikolaevich)**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский, Капитолово, Российская Федерация, niigrech@rihophe.ru

равления этим ядом [7]. В ряде исследовательских работ были описаны неспецифические нейротоксические механизмы действия CO, в число которых входят развитие оксидативного стресса [8], нарушение межклеточной сигнализации [9] и др. Ещё одним механизмом нейротоксического действия CO, ответственным за развитие отдалённых нарушений, может быть активация программируемой клеточной гибели, развивающейся по типу апоптоза [10].

Белки-регуляторы апоптоза, подразделяются на проапоптотические и антиапоптотические [11]. Белок p53 обладает апоптотическими свойствами, является фактором транскрипции, регулирующим активность ряда антионкогенов, кодирующих проапоптотические белки [11]. Протеинкиназа Akt1 (серин-треониновая протеинкиназа) обладает антиапоптотическим действием, являясь ингибитором целой группы проапоптотических белков, опосредующих митохондриальный и FAS-лиганд-зависимый механизмы апоптоза [12]. Исследование содержания этих белков в структурах ЦНС в различные периоды после интоксикации CO может быть использовано для исследования механизмов нейротоксического действия данного токсиканта, а также скрининга препаратов, обладающих антиапоптотической активностью.

Синтетический тетрапептид KК1, являющийся структурным аналогом последовательности фрагмента адренокортикотропного гормона (Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide), обладает нейропротективными механизмами действия, продемонстрированными на различных моделях поражения ЦНС у лабораторных животных [13]. В литературе отсутствуют данные о влиянии этого препарата на процессы апоптоза, развивающиеся после тяжёлой интоксикации CO.

*Целью данного исследования* явилось изучение влияния пептида KК1 на содержание маркеров апоптоза в головном мозге лабораторных животных в отдалённом периоде тяжёлой интоксикации оксидом углерода.

**Материалы и методы исследования.** Моделирование острого тяжёлого отравления лабораторных животных (белых крыс) оксидом углерода осуществляли статическим методом с использованием герметичной затравочной камеры объёмом 0,1 м<sup>3</sup>. Концентрация CO составила 0,8 LC<sub>50</sub>, что при экспозиции 30 мин соответствовало 4500±350 ppm. Содержание CO в ингаляционной камере контролировали при помощи газоанализатора ДАХ-М-03 («Аналит-Прибор», Россия).

Лабораторные животные были подразделены на три группы. Первая группа – интактные животные, которые находились в течение 30 мин в ингаляционной камере содержащей атмосфер-

ный воздух. Вторая группа (CO) – животные, которые подвергались интоксикации оксидом углерода. Третья группа (CO+KК1) – животные, которые подвергались интоксикации оксидом углерода и получали пептид KК1.

Синтетический тетрапептид KК1 вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг/сут в течение 5 дней, первое введение осуществлялось непосредственно после окончания интоксикации CO.

Содержание HbCO в крови лабораторных животных определяли спектрофотометрическим методом после окончания интоксикации [14].

Оценку содержания активных форм белка p53 и протеинкиназы Akt1 производили в гомогенатах цельного головного мозга крыс на 1, 7 и 14 сут после острой тяжёлой интоксикации CO. Так как пептид KК1 вводился в течение 5 дней после окончания воздействия CO, то определение маркеров апоптоза в этой группе животных проводили на 7 и 14 сут после интоксикации. Головной мозг крыс выделяли после декапитации, промывали раствором Хенкса («Биолот», Россия) и замораживали в жидком азоте. Ткань гомогенизировали растиранием в ступке с жидким азотом и хранили при –70 °С до проведения анализа. Для получения экстракта головного мозга, навеску ткани перерастворяли в лизирующем буфере (кат. № 43-040 Merk/Millipore) с добавлением набора ингибиторов протеаз (кат. № 11836153001, Complete, Roche) и ингибиторов фосфатаз (кат. № P5726 Sigma, Phosphatase Inhibitor Cocktail 2, США). Экстракт гомогенизировали с помощью роторного гомогенизатора («SilentCrusher M, Heidolph», США), затем центрифугировали при 20000 g при 4°С в течение 20 мин. В супернатанте определяли концентрацию белка по методу Лоури с использованием микропланшетного спектрофотометра Epoch («Biotek», США). Для дальнейшего анализа, концентрацию белка в экстракте выравнивали до концентрации 0,8 мг/мл. Анализ активированных фосфорилированных белков – маркеров апоптоза проводили с помощью иммунофлуоресцентного метода по технологии Lumiplex xMAP. Для анализа использовали наборы реактивов для определения ранних маркеров апоптоза (7-Plex MILLIPLEX MAP Early Apoptosis Magnetic Bead Kit, Кат. № 48-669MAG Merk/Millipore, США), которые позволяют определять активированные фосфорилированные формы следующих белков: Akt1 (Ser473) и p53 (Ser46), BAD (Ser112), Bcl-2 (Ser70), JNK (Thr183/Tyr185), а также активных форм каспазы 8 (гидролизованной по Asp384) и каспазы 9 (гидролизованной по Asp315). Подготовку образцов для иммунофлуоресцентного анализа и анализ на иммунофлуоресцентном анализаторе Bio-Plex 200 (Bio-Rad) по протоколам фирм-производителей наборов реактивов

и оборудования выполнялись в ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России.

Данные, полученные в ходе экспериментальных исследований, были обработаны в программе «Statistica 6.0». Оценку различий средних значений проводили с использованием критерия Вилксона-Манна-Уитни.

Эксперименты проводились в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 года № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»

**Результаты и обсуждение.** У животных (СО) группы во время нахождения в камере с оксидом углерода в концентрации  $0,8 LC_{50}$  возникали признаки интоксикации. Так, после короткого периода возбуждения, наблюдалась гипокинезия, атаксия и уже через  $3,82 \pm 0,31$  мин после начала интоксикации положение тела животных в пространстве расценивалось как «на животе». Через  $9,87 \pm 1,07$  мин фиксировалось боковое положение тела животных, развивался гипертонус мышц, локальные миофасцикуляции и тонические судороги. Боковое положение тела и гипертонус мышц сохранялись до момента извлечения животных из камеры. Непосредственно после извлечения животных из камеры у них наблюдалась анальгезия и терманестезия. Восстановление положения тела в пространстве происходило через  $9,74 \pm 2,19$  мин, а восстановление мышечного тонуса отмечено на  $18,03 \pm 1,96$  мин после извлечения из камеры. Гибель животных происходила только во время нахождения их в ингаляционной камере с СО, летальность составила  $22,5 \pm 9,2\%$ . К концу 1 сут после интоксикации поведение, потребление пищи и воды у животных групп (СО) и (СО+КК1) не отличалось от интактной группы.

Содержание НвСО в крови лабораторных животных непосредственно после окончания интоксикации составляло  $69,7 \pm 2,3\%$ . Такой уровень карбоксигемоглобина и описанные клинические проявления свидетельствуют о развитии у крыс тяжёлой степени отравления оксидом углерода [15].

Для оценки содержания маркеров апоптоза в гомогенатах головного мозга крыс после тяжёлой интоксикации СО исследовали содержание основных ключевых активированных внутриклеточных маркеров развития раннего апоптоза. В результате проведённого исследования установлено, что содержание активной формы протеинкиназы Akt1 в группе (СО) значимо ( $p \leq 0,05$ ) увеличивалось на 7 и 14 сут после интоксикации в сравнении с интактной группой. В группах животных, получавших в качестве лечения пептид КК1 содержание активной формы протеинкиназы Akt1 на 7 и 14 сут после воздействия СО, было значимо ( $p \leq 0,05$ ) ниже, чем в (СО) группе и не отличалось от интактной группы (табл. 1).

Аналогичная динамика наблюдалась при исследовании содержания активной формы белка p53. Так, выявлено его увеличение на 7 и 14 сут после интоксикации в (СО) группе по сравнению с интактными животными. Применение пептида КК1 приводило к значимому ( $p \leq 0,05$ ) снижению содержания белка p53 по сравнению с (СО) группой на 7 и 14 сут после интоксикации (табл. 2).

Таким образом, выявлено, что интоксикация СО приводила к увеличению содержания активных форм проапоптотического белка p53 и антиапоптотической протеинкиназы Akt1 в отдалённом периоде интоксикации, а лечебное применение пептида КК1 способствовало снижению содержания этих маркеров апоптоза.

Роль опосредованного нейротоксического действия СО в развитии когнитивных нарушений была доказана в экспериментах, моделирующих гипоксическую гипоксию. Так были продемонстрированы существенные различия по биохимическим и гистологическим признакам повреждения ЦНС в сравнении с экспериментальными моделями интоксикации угарным газом [6].

Одним из опосредованных механизмов развития нарушений когнитивных функций при данном виде патологии является активация программируемой клеточной гибели в нейронах по типу апоптоза [10,16]. Так, в исследованиях различных авторов было показано, что процессы апоптоза в структурах ЦНС лабораторных животных после тяжёлой интоксикации СО начинают развиваться уже на 1 сут после окончания интоксикации, достигают максимума на 7 сут и сохраняются до 21 сут [10,17]. Таким образом, эти процессы могут обуславливать развитие нарушений функций ЦНС как в раннем, так и в отдалённом периоде интоксикации оксидом углерода и могут быть ответственны за развитие токсической энцефалопатии у пострадавших.

Одним из ключевых белков-регуляторов апоптоза является белок p53. Активация p53-сигнального внутриклеточного пути приводит к активации проапоптотических белков Bax, Bad и др. Активированные проапоптотические белки Bax и Bad способствуют формированию пор во внешней митохондриальной мембране, что приводит к выходу цитохрома С и активации внутреннего (митохондриального) пути развития апоптоза [18]. Одним из возможных путей активации p53-сигнального пути может быть увеличение содержания фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1a) [20].

Протеинкиназа Akt1 является антиапоптотическим белком. В активированном состоянии она фосфорилирует белки Bad и Bax, что приводит к ингибированию их проапоптотической функции, блокирует выход цитохрома С из митохондрий, тем самым предотвращает активацию

митохондриального пути развития апоптоза [11]. Активация Akt1/mTOR сигнального пути также может, запускается фактором HIF-1 $\alpha$  [21].

В нашем исследовании лабораторные животные были подвергнуты острой тяжёлой интоксикации CO в дозе 0,8 LC<sub>50</sub> в течение 30 мин. Степень тяжести интоксикации подтверждалась клиническими проявлениями и уровнем HbCO в крови лабораторных животных [15]. При оценке содержания маркеров апоптоза было выявлено, что интоксикация CO не приводила к увеличению содержания активных форм белка p53 и протеинкиназы Akt1 в головном мозге крыс на 1 сут после интоксикации. Достоверное увеличение содержания этих маркеров апоптоза в (CO) группе наблюдалось на 7 и 14 сут после интоксикации в сравнении с интактной группой (табл. 1, 2).

Активация про- и антиапоптотических систем, как правило, происходит одновременно и, в зависимости от интенсивности стимула, может приводить к противоположным результатам – к гибели клетки при интенсивном стрессовом стимуле или к выживанию клетки при восстановлении нормальных условий жизнедеятельности. В исследовании В. Wegiel (2008) продемонстрировано, что одной из мишеней CO-опосредованной регуляции апоптоза является транскрипционный фактор HIF-1 $\alpha$ , экспрессия которого увеличивается под влиянием CO [22]. Таким образом, одновременная активация белка p53 и Akt1 в головном мозге крыс в отдалённом периоде интоксикации может быть объяснена увеличением содержания фактора HIF-1 $\alpha$ , вследствие усиления его экспрессии оксидом углерода.

Для коррекции апоптоза в головном мозге крыс после тяжёлой интоксикации CO использовали синтетический тетрапептид КК1. На модели реперфузионного повреждения головного мозга применение пептида КК1 приводило к выраженному снижению уровня фрагментированной ДНК, что может свидетельствовать о наличии антиапоптотического механизма действия у этого препарата [19].

В нашем исследовании было установлено, что лечебное применение пептида КК1 приводило к снижению содержания активных форм, как протеинкиназы Akt1, так и белка p53 в головном мозге крыс на 7 и 14 сут после воздействия CO. Вероятно, пептид КК1 через влияние на HIF-1 $\alpha$  блокирует активацию белка

Таблица 1

**Влияние КК1 (40 мкг/кг/сут, 5 сут) на содержание активной формы протеинкиназы Akt1 в гомогенатах головного мозга крыс при тяжёлом отравлении CO (0,8 LC<sub>50</sub>, 30 мин), интенсивность флуоресценции, отн. ед. (M $\pm$ m<sub>x</sub>)**

Группы животных	Сроки после воздействия CO, сут		
	1	7	14
Интактные	12,25 $\pm$ 5,31		
CO	11,25 $\pm$ 4,25	28,17 $\pm$ 3,07*	21,83 $\pm$ 1,83
CO+КК1	-	9,32 $\pm$ 4,14#	9,51 $\pm$ 0,29#

Примечание: \* – различия (по U-критерию Манна-Уитни) значимы по сравнению с интактной группой ( $p \leq 0,05$ )  
# – различия (по U-критерию Манна-Уитни) значимы по сравнению с группой CO ( $p \leq 0,05$ ); в каждой группе  $n = 6$

Таблица 2

**Влияние КК1 (40 мкг/кг/сут, 5 сут) на содержание активной формы белка p53 в гомогенатах головного мозга крыс при тяжёлом отравлении CO (0,8 LC<sub>50</sub>, 30 мин), интенсивность флуоресценции отн. ед. (M $\pm$ m<sub>x</sub>)**

Группы животных	Сроки после воздействия CO, сут		
	1	7	14
Контроль	4,63 $\pm$ 1,91	4,63 $\pm$ 1,91	4,63 $\pm$ 1,91
CO	6,25 $\pm$ 3,75	30,83 $\pm$ 7,16*	10,51 $\pm$ 3,42
CO+КК1	-	7,51 $\pm$ 3,75#	2,33 $\pm$ 1,45#

Примечание: \* – различия (по U-критерию Манна-Уитни) значимы по сравнению с интактной группой ( $p \leq 0,05$ )  
# – различия (по U-критерию Манна-Уитни) значимы по сравнению с группой CO ( $p \leq 0,05$ ); в каждой группе  $n = 6$

p53 и протеинкиназы Akt1 на фоне интоксикации CO, что приводит к ограничению апоптоза в головном мозге крыс при данном виде патологии.

**Заключение.** Результаты проведённых экспериментов позволяют сделать предположение, что потенциальный механизм нейропротективного действия синтетического тетрапептида КК1 при острой тяжёлой интоксикации CO может быть связан с ограничением развития апоптоза в головном мозге.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зобнин Ю. В. Отравление монооксидом углерода (угарным газом). СПб.: Тактик-Студио; 2011.
2. Braubach M., Algoet A., Beaton M. et al. Mortality associated with exposure to carbon monoxide in WHO European member states. *Indoor Air*. 2013; 23: 115-25.
3. Weaver L.K. Clinical practice. Carbon monoxide poisoning. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1217-25.
4. Oh S., Choi S. Acute carbon monoxide poisoning and delayed neurological sequelae: a potential neuroprotection bundle therapy. *Neural Regen. Res.* 2015; 10(1): 36-38.
5. Prockop L.D., Chichkova R.I. Carbon monoxide intoxication: an updated review. 2007; 262 (1-2): P. 122-30.
6. Тиунов Л. А. Токсикология окиси углерода. М.: Медицина; 1980.
7. Piantadosi C.A., Carraway M.S., Suliman H.B. Carbon monoxide, oxidative stress and mitochondrial permeability pore transition. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 40(8): 1332-39.
8. Thom R.S., Bhopale V.M., Hun S. et al. Intravascular neutrophil activation due to carbon monoxide poisoning. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 174 (11): 1239-49.
9. Park E.J., Min Y., Kim G. et al. Pathophysiology of brain injuries in acute carbon monoxide poisoning: a novel hypothesis. *Med. Hypotheses*. 2014; 83: 186-89.
10. Piantadosi C.A., Zhang J., Levin E. et al. Apoptosis and delayed neuronal damage after carbon monoxide poisoning in the rat. *Exp. Neurol.* 1997; 147 (1): 103-14.
11. Вересов В. Г. Структурная биология апоптоза. Минск: Белорус. наука; 2008.
12. Claerhout S., Decraene D., Van Laethem A. et al. AKT delays the early-activated apoptotic pathway in UVB-irradiated keratinocytes via BAD translocation. *J. Invest. Dermatol.* 2007; 127 (2): 429-38.
13. Тетрапептид и средство, обладающее церебропротекторной и антиамнестической активностью (варианты) // Патент 2537560 С2 РФ. 2014 г.
14. Методические указания о количественном определении карбоксигемоглобина и карбоксимемоглобина. М.: МЗ СССР, 1974.
15. Шперлинг И. А. Патология эритроцита при экзогенных интоксикациях. Томск: Изд-во Томского ун-та; 2006.
16. Tofiahi R. Hypoxia-independent apoptosis in neural cells exposed to CO in vitro. *Brain Resear.* 2006; 1098: 1-8.
17. Li Q., Cheng Y., Bi M.G. et al. Effects of N-Butylphthalide on the expressions of Nogo/NgR in rat brain tissue after carbon monoxide poisoning. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2015; 39 (2); 953-61.
18. Черешнев В. А. Фармакологическое регулирование программированной гибели клеток. СПб.: Наука; 2011.
19. Deiko D.R., Shtrygol` S.Yu., Kolobov A.A. The mechanism of neuroprotective action of new oligopeptides-homologus of primary ACHT15-18 sequence. Topical issues of new drug development: abstracts of International Scientific and Practical Conference of Young Scientist and Students (April 23 2015). – Kh.: Publishing office NUPH, 2015; 307-8.
20. Halterman M.W., Miller C.C., Federoff H.J. Hypoxia-inducible factor-1 alpha mediates hypoxia-induced delayed neuronal death that involves p53. *J. Neurosci.* 1999; 19: 6818-24.
21. Pore N, Jiang Z, Shu H.K. et al. Akt1 activation can augment hypoxia-inducible factor-1alpha expression by increasing protein translation through a mammalian target of rapamycin-independent pathway. *Mol. Cancer Res.* 2006 Jul; 4(7): 471-9.
22. Wegiel B., Chin B.Y., Otterbein L.E. Inhale to survive, cycle or die? *Cell Cycle.* 2008; 7: 1379-84.

## REFERENCES:

1. Zobnin Yu.V. Carbon monoxide poisoning (Carbon monoxide). SPb.: Taktik-Studio; 2011 (in Russian).
2. Braubach M., Algoet A., Beaton M. et al. Mortality associated with exposure to carbon monoxide in WHO European member states. *Indoor Air*. 2013; 23: 115-25.
3. Weaver L.K. Clinical practice. Carbon monoxide poisoning. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1217-25.
4. Oh S., Choi S. Acute carbon monoxide poisoning and delayed neurological sequelae: a potential neuroprotection bundle therapy. *Neural Regen. Res.* 2015; 10(1): 36-38.
5. Prockop L.D., Chichkova R.I. Carbon monoxide intoxication: an updated review. 2007; 262 (1-2): P. 122-30.
6. Тиунов Л.А. Toxicology of carbon monoxide. Moscow: Medicina; 1980 (in Russian).
7. Piantadosi C.A., Carraway M.S., Suliman H.B. Carbon monoxide, oxidative stress and mitochondrial permeability pore transition. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 40(8): 1332-39.
8. Thom R.S., Bhopale V.M., Hun S. et al. Intravascular neutrophil activation due to carbon monoxide poisoning. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 174 (11): 1239-49.
9. Park E.J., Min Y., Kim G. et al. Pathophysiology of brain injuries in acute carbon monoxide poisoning: a novel hypothesis. *Med. Hypotheses*. 2014; 83: 186-89.
10. Piantadosi C.A., Zhang J., Levin E. et al. Apoptosis and delayed neuronal damage after carbon monoxide poisoning in the rat. *Exp. Neurol.* 1997; 147 (1): 103-14.
11. Veresov V.G. Structural biology of apoptosis. Minsk: Belorus. nauka; 2008 (in Russian).
12. Claerhout S., Decraene D., Van Laethem A. et al. AKT delays the early-activated apoptotic pathway in UVB-irradiated keratinocytes via BAD translocation. *J. Invest. Dermatol.* 2007; 127 (2): 429-38.
13. Patent RU 2537560 C2 .The tetrapeptide and means having cerebroprotective and anti-amnestic activity (options). 2014 (in Russia).
14. Guidelines for the quantitative determination of carboxyhemoglobin and carboxyhemoglobin. Moscow.: MH USSR; 1974 (in Russian).
15. Shperling I.A. Pathology of the erythrocyte after exogenous intoxication. Tomsk: Izd-vo Tomskogo un-ta; 2006 (in Russian).
16. Tofiahi R. Hypoxia-independent apoptosis in neural cells exposed to CO in vitro. *Brain Resear.* 2006; 1098: 1-8.
17. Li Q., Cheng Y., Bi M.G. et al. Effects of N-Butylphthalide on the expressions of Nogo/NgR in rat brain tissue after carbon monoxide poisoning. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2015; 39 (2); 953-61.
18. Chereshev V.A. Pharmacological regulation of programmed cell death. Spb.: Nauka; 2011 (in Russia).
19. Deiko D.R., Shtrygol` S.Yu., Kolobov A.A. The mechanism of neuroprotective action of new oligopeptides-homologus of primary ACHT15-18 sequence. Topical issues of new drug development: abstracts of International Scientific and Practical Conference of Young Scientist and Students (April 23 2015). – Kh.: Publishing office NUPH, 2015; 307-8.
20. Halterman M.W., Miller C.C., Federoff H.J. Hypoxia-inducible factor-1 alpha mediates hypoxia-induced delayed neuronal death that involves p53. *J. Neurosci.* 1999; 19: 6818-24.
21. Pore N, Jiang Z, Shu H.K. et al. Akt1 activation can augment hypoxia-inducible factor-1alpha expression by increasing protein translation through a mammalian target of rapamycin-independent pathway. *Mol Cancer Res.* 2006 Jul; 4(7): 471-9.
22. Wegiel B., Chin B.Y., Otterbein L.E. Inhale to survive, cycle or die? *Cell Cycle.* 2008; 7: 1379-84.

P.G Tolkach<sup>1</sup>, V.A Basharin<sup>1</sup>, A.A Kolobov<sup>2</sup>, N. Yu Rogovskaya<sup>3</sup>, V.N Babakov<sup>3</sup>

## EFFECT OF KK1 PEPTIDE ON MAINTENANCE OF APOPTOSIS MARKERS IN RATS BRAIN CAUSED BY SEVERE CARBON OXIDE POISONING

<sup>1</sup> S.M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation, 194044, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> State Research Institute of High-pure Biopreparations, Federal Medical Biological Agency, 197110, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup> Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663 Kuzmolovsky, Leningrad region, Russian Federation.

Carbon oxide poisoning leads to the development of delayed CNS functions disturbances. These disturbances may be not only linked to the development of hemic hypoxia. In a number of research works, nonspecific neurotoxic carbon oxide mechanisms of action were described, one of which is activation of programmed cell death developing as apoptosis. One of the preparations having neuroprotective action mode is a synthetic analog sequence of adrenokortikotropic hormone – KK1 peptide. In this research, laboratory animals were exposed to acute heavy carbon oxide poisoning in a dose of 0.8 LC<sub>50</sub> within 30 min. KK1 peptide was administrated intranasally in a dose of 40 mg/kg/day within 5 days. In rats brain homogenates, the maintenance of active forms of marker proteins associated with apoptosis early stages was investigated at different time after intoxication with carbon oxide. As a result of the conducted research, it was established that the use of KK1 peptide leads to the decrease of the maintenance of r53 protein active forms and Akt1 protein kinase on 7th and 14th days after a heavy poisoning with carbon oxide. Results of the experiment performed allow to suggest that at that type of pathology the potential mechanism of neuroprotective effect of synthetic KK1 tetrapeptide is connected with restricted development of apoptosis in brain.

**Keywords:** carbon oxide, neurotoxicity, apoptosis, Akt1 protein kinase, r53protein, KK1 peptide.

Материал поступил в редакцию 17.05.2016 г.

УДК 9.61.615.9:616.099-082

# МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТАНОЛОМ И ИХ КОРРЕКЦИИ ПЕПТИДНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д.А. Халютин<sup>1</sup>, Т.С. Соловьёва<sup>1</sup>,  
В.Л. Рейнюк<sup>1</sup>, А.А. Ховпачев<sup>1</sup>,  
В.С. Чирский<sup>1</sup>, А.Е. Антушевич<sup>1</sup>,  
А.Н. Гребенюк<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное  
военное образовательное учреждение высшего  
образования «Военно-медицинская академия  
имени С.М. Кирова» Министерства обороны  
Российской Федерации, 194044,  
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>Федеральное бюджетное учреждение науки  
«Северо-Западный научный центр гигиены и  
общественного здоровья» Федеральной службы  
по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека, 191036, г. Санкт-  
Петербург, Российская Федерация

Представлены результаты морфологического исследования головного мозга при остром отравлении этиловым спиртом и коррекции комбинацией моликсана с семаксом. Этанол в виде 40% раствора вводили внутривенно в дозе 12 г/кг, что соответствовало 1,5 ЛД<sub>50</sub>. Семакс вводили интраназально в дозе 3 мг/кг, моликсан – внутривенно в дозе 30 мг/кг. Эффективность препаратов оценивали при профилактической (однократно за 1 ч до этанола), лечебно-профилактической (за 1 ч до и сразу после введения этанола), ранней лечебной (сразу после введения этанола, а затем один раз в день в течение 2 последующих суток) и отсроченной лечебной (через 30 мин после введения этанола, а затем один раз в день в течение 2 последующих суток) схемах применения. Забор материала для морфологического исследования производили через 1 ч, 3 ч, 1 сут и 3 сут после моделирования алкогольной интоксикации. Установлено, что этанол в дозе 1,5 ЛД<sub>50</sub> вызывает полнокровие и стаз в сосудах мягкой мозговой оболочки, плазматическое пропитывание эндотелия; повреждение сосудов микроциркуляторного русла гемато-энцефалического барьера, что сопровождается повышением их проницаемости; проникновение эритроцитов за пределы стенки сосудов; периваскулярный отек ткани головного мозга, изменения формы и размеров нейронов (сморщивание нейронов). Показано, что при лечебно-профилактическом применении комбинации моликсана с семаксом наблюдается снижение токсического воздействия этанола, проявляющееся в существенном уменьшении выраженности плазморрагии и отсутствии сморщенных нейронов.

**Ключевые слова:** отравление, этанол, моликсан, семакс, головной мозг, морфологическая структура.

**Халютин Денис Александрович (Halyutin Denis Aleksandrovich)**, кандидат медицинских наук, преподаватель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, hal-denis81@yandex.ru

**Соловьёва Татьяна Семеновна (Solovyeva Tatyana Semenovna)**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, soloveva70@list.ru

**Рейнюк Владимир Леонидович (Reynuk Vladimir Leonidovich)**, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, vladton@mail.ru

**Ховпачёв Алексей Андреевич (Hovpachev Alexey Andreevich)**, слушатель факультета подготовки врачей Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, kmkk2005@rambler.ru

**Чирский Вадим Семенович (Czerski Vadim Semenovich)**, доктор медицинских наук, начальник кафедры патологической анатомии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, czerski@mail.ru

**Антушевич Александр Евгеньевич (Antushevich Aleksandr Evgenyevich)**, доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории военной терапии научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, mantushevich@mail.ru;

**Гребенюк Александр Николаевич (Grebenuk Aleksandr Nikolaevich)**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация; заведующий лабораторией токсикологии Северо-Западного научного центра гигиены и общественного здоровья Роспотребнадзора, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, grebenuk\_an@mail.ru

**Введение.** По данным мировой статистики, смертность от злоупотребления спиртными напитками уступает лишь травмам, сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям. Согласно информации Всемирной организации здравоохранения, в 2000 г. алкоголь был причиной 3,2% всех смертей в мире, причем эта цифра ниже в развивающихся странах и выше в развитых [1].

В России ведущей причиной смерти (более 50%) от острых отравлений химической этиологии в бытовых условиях является этиловый спирт и так называемые суррогаты алкоголя, т.е. различные спирты, растворители и другие жидкости непищевого назначения, обладающие наркотическим действием, употребление которых происходит, как правило, с целью алкогольного опьянения [2]. В России ежегодно регистрируется свыше 700 тыс. избыточных смертей, 80% которых прямо или косвенно связаны с чрезмерным употреблением алкоголя, а также острым отравлением им [3]. Основная масса случаев смертельных алкогольных отравлений приходится на трудоспособный возраст, а пик смертности – на 45-59 лет [4].

Этанол и продукт его биотрансформации ацетальдегид и развивающийся метаболический ацидоз оказывают патологическое влияние на нервную систему [4,5, 6]. Вследствие этого острая интоксикация этанолом характеризуется психическими, вегетативными и неврологическими расстройствами. Основой этих нарушений является неэлектролитное действие этанола, дисбаланс между стимулирующими и тормозными медиаторными системами, обусловленный влиянием этилового спирта на деятельность, в первую очередь, ГАМК-, глутамат-, серотонинэргических структур мозга и нарушением окисленных НАД-зависимых процессов ресинтеза аденозинтрифосфата в нервных клетках [7, 8]. Таким образом, алкоголь, обладая выраженным нейротропным действием, оказывает патологическое влияние на нервную систему [9].

Фармакологическая коррекция этих нарушений может осуществляться препаратами пептидной природы, обладающими нейропротекторными свойствами. В проведенных нами ранее исследованиях показано, что применение пептидных препаратов семакса и моликсана позволяет увеличить выживаемость крыс, подвергнутых воздействию высоких доз этанола [10]. Однако сведения о влиянии моликсана и семакса на структурные изменения в головном мозгу при острых тяжелых отравлениях этанолом до настоящего времени отсутствуют.

*Целью исследования* явилось экспериментальное изучение морфологических особенностей нейропротекторного действия пептидных препа-

ратов моликсана и семакса при остром крайне тяжёлом отравлении этиловым спиртом.

**Материалы и методы исследования.** Экспериментальные исследования выполнены на 87 белых беспородных крысах-самцах массой 200–220 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животных содержали в условиях вивария, не более 6 особей в одной клетке при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света 8.00–20.00 при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . За сутки до эксперимента животных не кормили. Экспериментальные исследования проводили в осенне-зимний период. При проведении исследований выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [11].

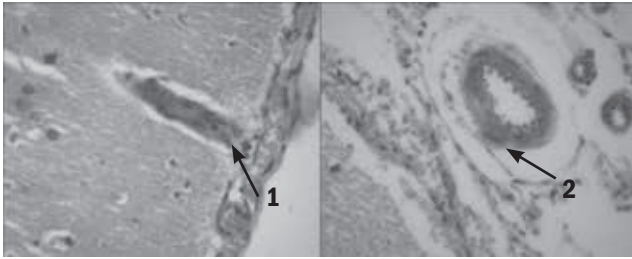
В качестве токсиканта использовали 40% этанол, который вводили внутривентрикулярно при помощи зонда в дозе 1,5 ЛД<sub>50</sub> (12,0 г/кг). В связи с большим объемом вводимого раствора указанную дозу делили поровну на два введения через 15 мин.

Синтетический препарат моликсан, синтезированный в ЗАО «Фарма ВАМ», представляет собой кристаллический порошок светло-желтого цвета. Перед введением моликсан предварительно растворяли в физиологическом растворе при одновременном размешивании. Раствор моликсана готовили непосредственно перед его введением крысам. Препарат вводили в виде 0,3% раствора внутривентрикулярно в дозе 30 мг/кг в объёме 1 мл на 100 г массы тела животного.

Семакс представляет собой оригинальный синтетический пептидный препарат, являющийся аналогом фрагмента адренкортикотропного гормона (АКТГ 4-10: метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин), полностью лишённого гормональной активности. В эксперименте использовали семакс в виде 1% раствора назальных капель производства ЗАО «Инновационный научно-производственный центр «Пептоген» (Россия). Семакс вводили интраназально в дозе 3 мг/кг. Контрольные группы животных в тех же объёмах внутривентрикулярно и интраназально получали физиологический раствор.

Препараты применяли, используя 4 схемы введения: профилактическую (однократно за 1 ч до введения этанола), лечебно-профилактическую (за 1 ч до и сразу после введения этанола), раннее лечение (сразу после введения этанола, а затем один раз в день в течение 2 последующих сут) и отсроченное лечение (через 30 мин после введения этанола, а затем один раз в день в течение 2 последующих сут).

Животные были разделены на 3 группы: 1-я – интактные животные, которых не подвергали



**Рис. 1.** Головной мозг интактной крысы (окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 600$ ).

Примечание:

- 1 – Капилляры мягкой мозговой оболочки и перикапиллярное пространство.
- 2 – Артериолы и капилляры мягкой мозговой оболочки и перикапиллярное пространство.

фармакологическим и токсическим воздействиям (биологический контроль); 2-я – животные, которым вводили этанол и физиологический раствор в объемах, равных вводимым препаратам; 3-я – животные, которым вводили этанол и моликсан с семаксом по одной из 4-х вышеописанных схем введения.

Забор материала для морфологического исследования проводили через 1 ч, 3 ч, 1 сут и 3 сут после введения этанола. После вскрытия головной мозг крыс извлекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, проводили через спирты и заливали в парафин по стандартной методике приготовления гистологических препаратов [12]. Производили серийные срезы головного мозга. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Изготовленные препараты изучали в светооптическом микроскопе Leica (Германия) при 600-кратном увеличении.

Сравнительный анализ полученных результатов проводили по следующим морфологическим признакам:

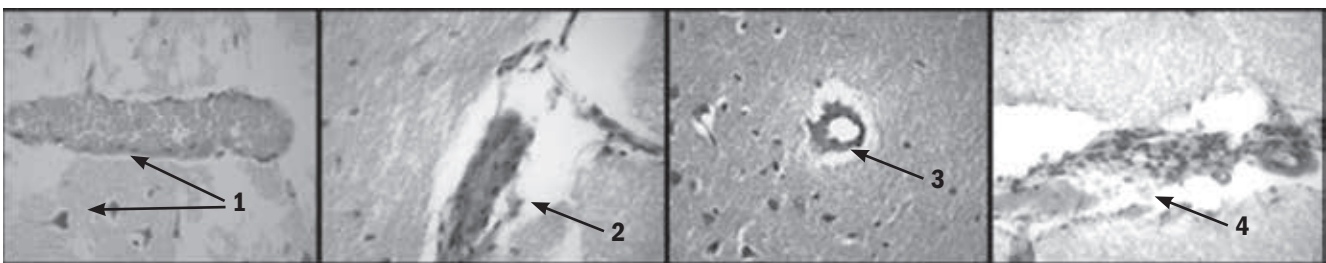
- морфологические маркеры повреждения микроциркуляторного русла: стаз, отек интимы, пиноцитоз эндотелия капилляров;
- морфологические проявления повреждения паренхимы: распространенность, форма дистрофии нервных клеток.

**Результаты и обсуждение.** На срезах головного мозга животных интактной группы было отмечено четкое гистологическое строение компонентов стенки артериол и капилляров мягкой мозговой оболочки, области коры головного мозга, содержащих эритроциты остановившейся крови (рис. 1).

В отличие от интактных животных у крыс, получавших этанол, на срезах головного мозга в стенке капилляров и мелких артериол было обнаружено выраженное полнокровие сосудов коры головного мозга, стаз и зоны плазматического пропитывания стенок капилляров с выходом единичных эритроцитов за их пределы, наличие изменений формы и размера нейронов (сморщивание нейронов) (рис. 2).

При оценке срезов головного мозга животных, с профилактической целью получавших пептидные препараты, определялось расширение перикапиллярного пространства, неравномерное полнокровие капилляров с зонами нарушения тинкториальных свойств базальной пластинки (рис. 3).

При оценке срезов головного мозга животных, получавших пептидные препараты за 1 ч до и сразу после введения этанола, обращали на себя внимание признаки полнокровия и незначительного периваскулярного отека. Повреждений паренхимы в виде дистрофических изменений ней-



**Рис. 2.** Головной мозг крысы после введения этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$  (окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 600$ ).

Примечание: А – головной мозг крысы через 1 ч после введения этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ ; Б – головной мозг крысы через 3 ч после введения этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ ; В – головной мозг крысы через 1 сут после введения этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ ; Г – головной мозг крысы через 3 сут после введения этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ .

- 1 – Стаз эритроцитов в капилляре с зоной однородных базофильных масс и выходом единичных эритроцитов.
- 2 – Стенка капилляра неравномерно утолщена, гомогенно окрашена.
- 3 – Капилляр с однородными базофильными массами в стенке.
- 4 – Выраженный перикапиллярный отек.

ронов коры головного мозга не выявлено (рис. 4).

При оценке срезов головного мозга животных, получавших пептидные препараты сразу после введения этанола, определялось выраженное полнокровие сосудов с усилением периваскулярного отека и фокусы начального повреждения базальной пластинки капилляров в виде очагов базофилии (рис. 5).

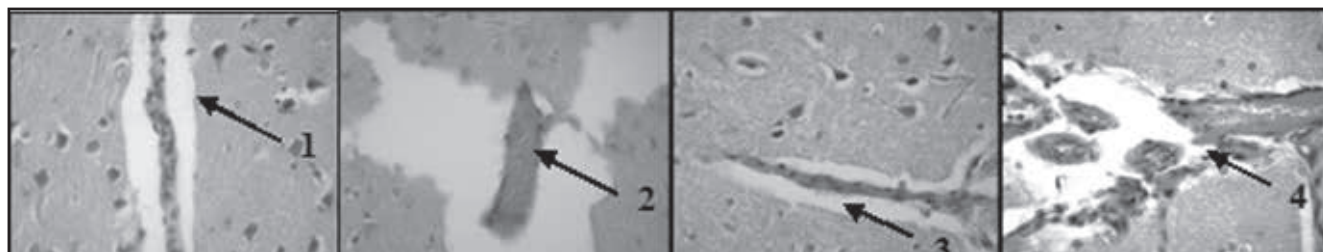
При оценке тканей головного мозга животных, получавших комбинацию моликсана с семаксом через 30 мин после введения этанола, морфологические изменения варьировали в наблюдениях в зависимости от сроков, прошедших после введения этилового спирта (рис. 6).

Таким образом, в ходе проведенного исследования было обнаружено, что введение этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$  вызывает повышение проницаемости сосудов микроциркуляторного русла гемато-энцефалического барьера, что отражает начальные признаки их повреждения. Так, в группе крыс, получавших только этанол, в ходе исследования наблюдалось полнокровие капилляров и сосудов мягкой мозговой оболочки, стаз, отек интимы, усиление плазматического пропитывания эндотелия капилляров (рис. 2). При этом стенка

сосуда была неравномерно утолщена за счет базофильных гомогенных масс с проникновением немногочисленных эритроцитов за ее пределы, определялся выраженный перикапиллярный отек. Кроме того, у отравленных этанолом животных были обнаружены повреждения паренхимы в виде дистрофических изменений нейронов коры головного мозга.

На срезах головного мозга крыс, отравленных этанолом и получавшем пептидные препараты при профилактическом и лечебном введении, определялось неравномерно выраженное полнокровие капилляров, явления стаза, фокусы отека интимы сосудов микроциркуляторного русла с неравномерно выраженным слабо базофильным окрашиванием и перикапиллярный отек. Повреждения паренхимы в виде дистрофических изменений нейронов коры головного мозга не выявлено (рис. 3–6).

Таким образом, при профилактическом и лечебном введении пептидных препаратов имеются морфологические проявления снижения токсического действия этанола. Наиболее выраженный лечебный эффект, проявляющийся в снижении плазморрагии по сравнению с животными из



**Рис. 3.** Головной мозг крысы при профилактическом использовании комбинации моликсана с семаксом перед введением этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$  (окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 600$ ).

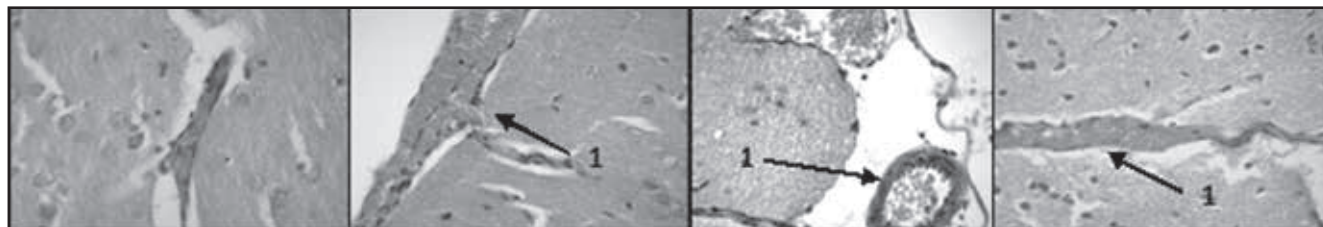
Примечание: обозначения А, Б, В, Г аналогичны рисунку 2.

1 - Перикапиллярное пространство.

2 - Стаз эритроцитов, слабо базофильное окрашивание базальной пластинки полнокровного капилляра.

3 - Увеличенное перикапиллярное и перicyellularное пространство.

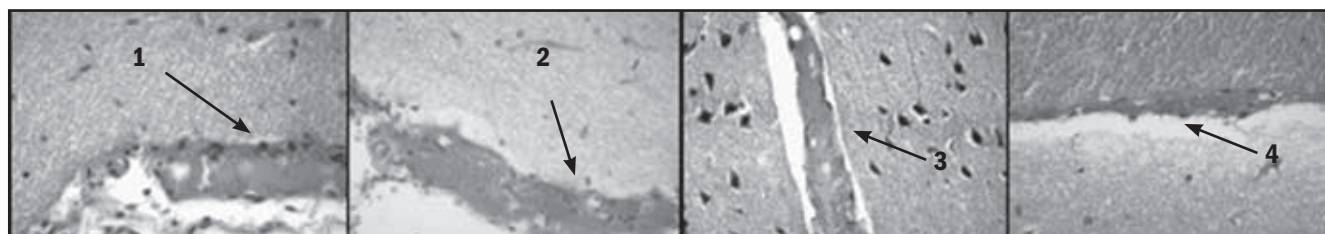
4 - Полнокровие, увеличенное перикапиллярное пространство.



**Рис. 4.** Головной мозг крысы при лечебно-профилактическом использовании комбинации моликсана с семаксом до и после введения этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$  (окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 600$ ).

Примечание: обозначения А, Б, В, Г аналогичны рисунку 2.

1 - Неравномерное полнокровие капилляров, увеличение перикапиллярного пространства.



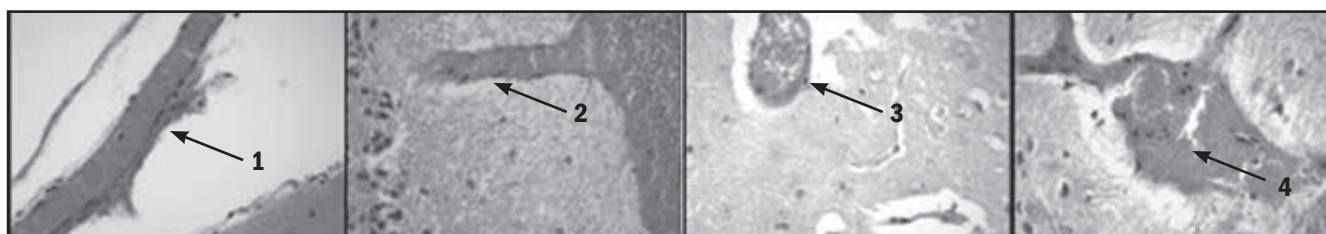
**Рис. 5.** Головной мозг крысы при лечебном использовании комбинации моликсана с семаксом сразу после введения этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$  (окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 600$ ).

Примечание: обозначения А, Б, В, Г аналогичны рисунку 2.

1 – Капилляры мягкой мозговой оболочки полнокровны.

2 – Неравномерное полнокровие капилляров, незначительно увеличенное перикапиллярное и перичеллюлярное пространство.

3 – Полнокровие капилляров, увеличение перикапиллярного пространства.



**Рис 6.** Головной мозг крысы при использовании комбинации моликсана с семаксом через 30 мин после введения этанола в дозе  $1,5 \text{ ЛД}_{50}$  (окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 600$ ).

Примечание: обозначения А, Б, В, Г аналогичны рисунку 2.

1 – Полнокровие и стаз эритроцитов в капиллярах, увеличение перикапиллярного пространства.

2 – Полнокровие капилляров, увеличение перикапиллярного пространства.

3 – Полнокровие капилляров, увеличение перикапиллярного и перичеллюлярного пространства.

4 – Выраженное полнокровие капилляров, увеличение перикапиллярного пространства.

группы, получавшей только этанол, отмечается при лечебно-профилактическом введении моликсана и семакса.

В литературе имеется значительное количество работ по морфологическим изменениям головного мозга при остром отравлении этиловым алкоголем, которые освещают эту проблему с разных позиций [13, 14].

Так, в работе Ф.В. Алябьева и соавт. (2012) было показано, что введение этанола в дозах 2, 4 и 8 мл/кг приводит к снижению количества нейроцитов во всех слоях коры. Дистрофические изменения нейронов были наиболее выражены к 5 и 6 ч от начала эксперимента. Отек головного мозга, в отличие от изменений в нейронах, проявляется уже на первых часах действия этанола в дозах 2, 4 и 8 мл/кг с максимальной выраженностью к 3 ч от начала воздействия. Вне зависимости от дозы вводимого этанола максимальное кровенаполнение органа также наблюдалось к 3 ч наблюдения с дальнейшей тенденцией к снижению степени выраженности данного критерия [15].

Морфологические изменения в головном моз-

ге характеризуются набуханием стенки сосудов с отложением в них гиалина и фибрина, нарушением проницаемости, уменьшением числа нервных клеток и их дегенеративной деградацией [9]. Кроме того, при отравлении этанолом описаны также неспецифические морфологические изменения внутренних органов: нарушение проницаемости стенок сосудов всех калибров, выражающиеся в разрыхлении сосудистой стенки, слущивании клеток эндотелия, плазматическом пропитывании стенок артерий; вокруг сосудов встречались небольшие кровоизлияния, а общим фоном служило венозное полнокровие внутренних органов, в особенности головного мозга [2].

Морфологические изменения головного мозга могут быть результатом не только прямого нейротоксического действия этанола и его метаболитов (дисбаланс тормозных и возбуждающих медиаторных систем мозга, нарушение НАД<sup>+</sup>-зависимых процессов ресинтеза АТФ в нервных клетках и метаболический ацидоз), но и следствием поражения печени и развития печеночной энцефалопатии [8,16,17].

Морфологические особенности действия изученных нами пептидных препаратов могут быть обусловлены их химической структурой, определяющей, в свою очередь, механизм их фармакологического действия. Так, моликсан представляет собой  $\text{Na}_2\text{GSSG}$ -инозин и является органической солью дисульфида глутатиона и инозина, содержащей в своей структуре пептидную и нуклеозидную компоненты [18]. Учитывая, что моликсан состоит из двух компонентов, правомерно будет считать, что механизм действия препарата будет определяться этими компонентами.

Согласно данным литературы входящий в состав моликсана окисленный глутатион является ингибитором Р-гликопротеина – одного из прогностически значимых маркеров множественной лекарственной резистентности [18], что позволяет препарату легко проникать через гематоэнцефалический барьер. Также известно, что входящий в состав моликсана инозин обладает нейропротекторными свойствами за счет активации синтеза АТФ, сохранения жизнеспособности клеток глии и нервных клеток при гипоксии, а также стимуляции роста аксонов [19,20]. Кроме того, биологическое действие инозина может включать воздействие на рецепторы аденозина и поли-(АДР-рибоза)-полимераза, что позволяет реализовать, в том числе защиту тканей мозга и печени. Таким образом, эффект моликсана будет в значительной степени определяться пуриновой компонентой, а значит, его можно рассматривать как предшественник АТФ, оказывающий антигипоксическое и метаболическое действие.

Семакс (гептапептид (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro), получаемый синтетическим путем, представляет собой полный аналог фрагмента 4-10 адренкортикотропного гормона (АКТГ), лишенный гормональной активности. Он от-

носится к группе нейропептидов, обладающих адаптивным и ноотропным эффектом, оказывает сильное комплексное нейропротективное действие, основными компонентами которого являются иммуномодуляция, торможение глимальных реакций воспаления, улучшение трофического обеспечения мозга, торможение синтеза оксида азота и реакций оксидантного стресса. Индуцированные нейропептидом цепочки метаболических превращений усиливают и поддерживают друг друга, приводя к торможению большинства важных механизмов отсроченной гибели клеток [21,22,23,24].

Таким образом, в ходе проведенного исследования показана эффективность сочетанного применения пептидных препаратов моликсан и семакс для коррекции морфологических нарушений, возникающих в головном мозгу после воздействия высоких доз этанола. Комбинация веществ, одно из которых инициирует каскад процессов, направленных на защиту клеток нервной системы, а второе позволяет обеспечить гепато- и нейропротекторный эффект, может рассматриваться как перспективное направление в терапии острых отравлений этанолом.

#### Выводы:

1. При интоксикации, вызванной введением 1,5 ЛД<sub>50</sub> этанола, развивается повреждение сосудов микроциркуляторного русла гемато-энцефалического барьера с изменением формы и размеров нейронов головного мозга.

2. Лечение-профилактическое применение комбинации моликсана с семаксом при интоксикации, вызванной этанолом в дозе 1,5 ЛД<sub>50</sub>, снижает выраженность нейротоксического воздействия этанола посредством уменьшения сосудисто-тканевой проницаемости гемато-энцефалического барьера и защиты структуры нейронов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пиголкин Ю.И. Острая и хроническая алкогольная интоксикация М.: МИА, 2003.
2. Бонитенко Е.Ю. (ред.) Клиника, диагностика, лечение, судебно-медицинская экспертиза отравлений алкоголем и его суррогатами. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2013.
3. Немцов А.В. Алкогольный урон регионов России. М., 2003.
4. Киселев А.С. Динамика здоровья населения в зависимости от доходов. Экономика здравоохранения. 2005; 1: 22-29.
5. Хоффман Р. Экстренная медицинская помощь при отравлениях. М.: Практика, 2010.
6. Лосев Н.И. Интоксикация. Малая медицинская энциклопедия. М.: Советская энциклопедия. 1991; 2: 299.
7. Ostapenko Y.N. Acute cholestatic liver injury caused by polyhexamethyleneguanidine hydrochloride admixed to ethyl alcohol. *Clinical Toxicology*. 2011; 49 (6): 471-478.
8. Халютин Д.А., Соловьева Т.С., Чирский В.С., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Гребенюк А.Н. Морфологические особенности действия пептидных препаратов при остром отравлении этиловым спиртом в эксперименте. *Токсикологический вестник*. 2015; 4: 19-26.
9. Маркизова Н.Ф., Гребенюк А.Н., Башарин В.А., Бонитенко Е.Ю. Спирты. СПб.: Фолиант, 2004.
10. Гребенюк А.Н., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Халютин Д.А. Эффективность гепатопротектора с пептидным компонентом моликсана при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом. *Токсикологический вестник*. 2014; 4: 12-19.
11. Хельсинская декларация. Всемирная медицинская ассоциация. М., 2001.
12. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. М.: Медицина; 1969.
13. Drobtenkov A.V. Morphological signs of ethanol poisoning, alcohol abstinence and chronic alcoholic intoxication in the mesocorticolimbic dopaminergic system. *Sud Med Ekspert*. 2011; 54 (5): 11-7.
14. Bjork J.M., Gilman J.M. The effects of acute alcohol administration on the human brain: Insights from neuroimaging. *Neuropharmacology*. 2014; 6: 101-110.
15. Алябьев Ф.В., Крахмаль Н.В., Арбыкин Ю.А., Серебров Т.В., Поверинов С.Н. Динамика патоморфологических изменений внутренних органов и биохимических параметров крови при острой алкогольной интоксикации в эксперименте. *Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики*. 2012; 18: 15-19.
16. Рейнюк В.Л., Шефер Т.В., Ивницкий Ю.Ю. Потенцирование аммиаком летального действия этанола на крыс. *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2008; 145 (6): 688-691.
17. Пиголкин Ю.И. Морфологическая диагностика наркотических интоксикаций в судебной медицине. М.: Медицина, 2004.
18. Богущ Т.А., Дудко Е.А., Богущ Е.А. Глутоксим как ингибитор фенотипа множественной лекарственной резистентности, ассоциированной с экспрессией Pgp. *Антибиотики и химиотерапия*. 2010; 5: 18-23.
19. Hasko G., Sitkovsky M.V., Szabo C. Immunomodulatory and neuroprotective effects of inosine. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2004; 25 (3): 152-157.
20. Stone T.W. Purines and neuroprotection. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2002; 451 (5): 249-280.
21. Шевченко К.В., Нагаев И.Ю.,

Алфеева Л.Ю. Кинетика проникновения семакса в мозг и кровь крыс при интраназальном введении. Биоорган. химия. 2006; 1: 64-70.  
22. Шабанов П.Д. Фармакология

лекарственных препаратов пептидной структуры. Психофармакол. биол. наркол. 2008; 3-4: 2399-2425.  
23. Романова Г.А., Силачев Д.Н., Шакова Ф.М. Нейропротективное и

антиамнестическое действие семакса при экспериментальном ишемическом инфаркте коры головного мозга. Бюл. эксперим. биол. и мед. 2006; 12: 618-621.

24. Скворцова В.И. Механизмы повреждающего действия церебральной ишемии и нейропротекция. Вест. РАН. 2003; 11: 74-81.

## REFERENCES:

- Pigolkin Yu.I. Ostraya i hronicheskaya alkohol'naya intoksikatsiya M.: MIA, 2003 (in Russian).
- Bonitenko E.Yu. (red.) Klinika, diagnostika, lechenie, sudebno-medicinskaya ehkspertiza otravlenij alkogolem i ego surrogatami. – SPb.: EHLBI-SPb, 2013. (in Russian)
- Nemcov A.V. Alkogol'nyj uron regionov Rossii. M., 2003. (in Russian)
- Kiselev A.S. Dinamika zdorov'ya naseleniya v zavisimosti ot dohodov. EHkonomika zdavoohraneniya. 2005; 1: 22-29. (in Russian)
- Hoffman R. Ekstrennaya medicinskaya pomoshch' pri otravleniyah. M.: Praktika, 2010. (in Russian)
- Losev N.I. Intoksikatsiya. Malaya medicinskaya ehnciklopediya. M.: Sovetskaya ehnciklopediya. 1991; 2: 299. (in Russian)
- Ostapenko Y.N. Acute cholestatic liver injury caused by polyhexamethyleneguanidine hydrochloride admixed to ethyl alcohol. Clinical Toxicology. 2011; 49 (6): 471-478.
- Halyutin D.A., Solovyeva T.S., Chirskij V.S., Rejnyuk V.L., Antushevich A.E., Grebenyuk A.N. Morfologicheskie osobennosti dejstviya peptidnykh preparatov pri ostrom otravlenii ehtilovym spirtom v ehksperimente. Toksikologicheskij vestnik. 2015; 4: 19-26. (in Russian)
- Markizova N.F., Grebenyuk A.N., Basharin V.A., Bonitenko E.Yu. Spirty. SPb.: Foliant, 2004. (in Russian)
- Grebenyuk A.N., Rejnyuk V.L., Antushevich A.E., Halyutin D.A. Effektivnost' gepatoprotektora s peptidnym komponentom moliksana pri ostroj krajne tyazheloj intoksikacii ehthanolom. Toksikologicheskij vestnik. 2014; 4: 12-19. (in Russian)
- Hel'sinskaya deklaratsiya. Vsemimaya medicinskaya asociatsiya. M.; 2001. (in Russian) (in Russian)
- Merkulov G.A. Kurs patogistologicheskoy tekhniki. M.: Medicina; 1969. (in Russian)
- Droblenkov A.V. Morphological signs of ethanol poisoning, alcohol abstinence and chronic alcoholic intoxication in the mesocorticolimbic dopaminergic system. Sud Med Ekspert. 2011; 54 (5): 11-7. (in Russian)
- Bjork J.M., Gilman J.M. The effects of acute alcohol administration on the human brain: Insights from neuroimaging. Neuropharmacology. 2014; 6: 101-110.
- Alyab'ev F.V., Krahmal' N.V., Arbykin Yu.A., Serebrov T.V., Poverinov S.N. Dinamika patomorfologicheskikh izmenenij vnutrennih organov i biohimicheskikh parametrov krovi pri ostroj alkogol'noj intoksikacii v ehksperimente. Aktual'nye voprosy sudebnoj mediciny i ehkspertnoj praktiki. 2012; 18: 15-19. (in Russian)
- Rejnyuk V.L., Shefer T.V., Ivnickij Yu.Yu. Potencirovanie ammiakom letal'nogo dejstviya ehthanola na krys. Byul. ehksperim. biologii i mediciny. 2008; 145 (6): 688-691. (in Russian)
- Pigolkin Yu.I. Morfologicheskaya diagnostika narkoticheskikh intoksikacij v sudebnoj medicine. M.: Medicina, 2004. (in Russian)
- Bogush T.A., Dudko E.A., Bogush E.A. Glutoksim kak ingibitor fenotipa mnozhestvennoj lekarstvennoj rezistentnosti, associirovannoj s ehkspresiej Pgp. Antibiotiki i himioterapiya. 2010; 5: 18-23. (in Russian)
- Hasko G., Sitkovsky M.V., Szabo S. Immunomodulatory and neuroprotective effects of inosine. Trends in Pharmacological Sciences. 2004; 25 (3): 152-157.
- Stone T.W. Purines and neuroprotection. Adv. Exp. Med. Biol. 2002; 451 (5): 249-280.
- Shevchenko K.V., Nagaev I.Yu., Alfeeva L.Yu. Kinetika proniknoveniya semaksa v mozg i krov' krys pri intranazal'nom vedenii. Bioorgan. himiya. 2006; 1: 64-70. (in Russian)
- Shabanov P.D. Farmakologiya lekarstvennykh preparatov peptidnoj struktury. Psihofarmakol. biol. narcol. 2008; 3-4: 2399-2425. (in Russian)
- Romanova G.A., Silachev D.N., Shakova F.M. Nejroprotektivnoe i antiamnesticheskoe dejstvie semaksa pri ehksperimental'nom ishemicheskom infarkte kory golovnogogo mozga. Byul. ehksperim. biol. i med. 2006; 12: 618-621. (in Russian)
- Skvorcova V.I. Mekhanizmy povrezhdayushchego dejstviya cerebral'noj ishemii i nejroprotektivnaya Vest. RAN. 2003; 11: 74-81. (in Russian)

D.A. Halyutin<sup>1</sup>, T.S. Solovyeva<sup>1</sup>, V.L. Reinyuk<sup>1</sup>, A.A. Hovpachev<sup>1</sup>, V.S. Chirski<sup>1</sup>, A.E. Antushevich<sup>1</sup>, A.N. Grebenyuk<sup>1,2</sup>

## MORPHOLOGICAL EVALUATION IN EXPERIMENT OF BRAIN DAMAGES IN ACUTE POISONING WITH ETHANOL AND THEIR CORRECTION WITH PEPTIDE DRUGS

<sup>1</sup>S.M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation, 194044, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Northwest Scientific Center of Hygiene and Public Health, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 191036, Saint-Petersburg, Russian Federation

Results of morphological studies of brain after acute poisoning with ethanol and its correction with combination of molixan and semax are reported. 40% ethanol solution was intragastrically administered at a dose of 12 g / kg, which corresponded to 1.5 LD<sub>50</sub>. Semax was intranasally administered in a dose of 3 mg / kg. Molixan was administrated intraperitoneally in a dose of 30 mg / kg. The efficacy of peptide drugs was evaluated according to four application schemes: prophylactic (once 1 hour before ethanol), prophylactic and treatment (1 h prior to and immediately after administration of ethanol), early treatment (immediately after administration of ethanol and then once daily for 2 consecutive days), and delayed treatment (30 min after administration of ethanol and then once daily for 2 consecutive days). The preparation of material for the morphological study was performed 1 hour, 3 hours, 1 day and 3 days after modeling of alcohol intoxication. It was found out that ethanol at a dose of 1.5 LD<sub>50</sub> causes congestion and stasis in the blood vessels of the pia mater, plasma-mpregnation of endothelium, microvascular damage to the blood-brain barrier that is followed by increase in their permeability, penetration of erythrocytes outside blood vessel walls, perivascular edema in brain tissue, change in shape and size of neurons (wrinkling of neurons). It was shown that the prophylactic and treatment application of the molixan and semax combination causes a reduction of ethanol toxic effects, which is manifested in significantly decreased plasmorrhagia severity and in the absence of wrinkled neurons.

**Keywords:** poisoning, ethanol, molixan, semax, brain, morphological structure.

Переработанный материал поступил в редакцию 16.05.2016 г.

УДК 9.61.615.9:616.099-082

## ДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И СВЕТОВОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Е.В. Плешакова<sup>1</sup>, М.В. Каневский<sup>1</sup>,  
С.И. Юлаева<sup>2</sup>, А.А. Галицкая<sup>1</sup>, С.А. Коннова<sup>1</sup>,  
О.В. Семьячкина-Глушковская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, 410012, г. Саратов, Российская Федерация

<sup>2</sup>ООО «Лечебно-диагностический центр «Авеста-М», 410028, г. Саратов, Российская Федерация

Исследовано отдельное и сочетанное воздействие на лабораторных мышей нитрита натрия и амина (п-толуидин), в том числе, в условиях дополнительного светового стресса. Установлено, что физическое воздействие (световой стресс) в течение 107 сут. обуславливает достоверное повышение активности аланинаминотрансферазы у лабораторных мышей и снижение активности гамма-глутамилтрансферазы. Отмечено некоторое увеличение изученных показателей белкового обмена (содержание мочевины и креатинина) у мышей под воздействием светового стресса. Дополнительное воздействие химического стресса (энтеральное введение комбинации нитрита натрия и п-толуидина) способствует увеличению активности индикаторных ферментов в сыворотке крови: аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы. Обнаружено снижение активности гамма-глутамилтрансферазы относительно контроля при комбинированном действии стрессоров различной природы. Выявленное воздействие стрессовых факторов на активность ферментов сыворотки крови коррелирует с патоморфологическими изменениями пищевода и желудка.

**Ключевые слова:** нитриты, п-толуидин, стресс, сывороточные ферменты.

**Введение.** Влияние химических и токсических факторов может провоцировать злокачественное перерождение клеток, в том числе, системы пищеварения [1]. В частности, употребление в пищу продуктов, содержащих нитраты и нитриты, является одной из важных причин высокой заболеваемости раком желудка [2]. Около 80% нитратов, поступающих в организм человека извне, – растительного происхождения [3]. Существенное количество этих веществ также содержится в сырах, грибах, специях, пиве и алкогольных напитках, консервированных, вяленых и копченых продуктах питания [4, 5]. Нитриты, соединяясь в желудке со вторичными и третичными аминами любых доброкачественных белковых продуктов, образуют нитрозамины – опасные канцерогены. Прямое локальное действие нитрозаминов, как

полагается, является одной из ключевых причин возникновения, как рака желудка, так и рака пищевода [6].

Потенциальная опасность воздействия химических токсикантов на здоровье людей усиливается факторами, проявляющимися в условиях современного города: стресс, витаминная недостаточность, нарушения светового режима и др.

В связи с вышесказанным, целью настоящей работы явилось исследование воздействия энтерального введения подопытным животным пре-канцерогенов – нитрита, амина и их комбинации в отсутствии и присутствии светового стресса.

**Материалы и методы исследования.** Для эксперимента были использованы 60 белых беспородных мышей (самцы и самки) возрастом 2 месяца и весом около 20 г. Эксперименты на животных

**Плешакова Екатерина Владимировна (Pleshakova Ekaterina Vladimirovna)**, д.б.н., профессор кафедры биохимии и биофизики биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, г. Саратов, Российская Федерация, plekat@yandex.ru

**Каневский Матвей Владимирович (Kanevskiy Matvey Vladimirovich)**, к.б.н., доцент кафедры биохимии и биофизики биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, г. Саратов, Российская Федерация, matvejkanev@mail.ru

**Юлаева Светлана Игоревна (Yulaeva Svetlana Igorevna)**, врач клинической лаборатории ООО «Лечебно-диагностический центр «Авеста-М», 410028, г. Саратов, Российская Федерация, arwen36@mail.ru

**Галицкая Анна Алексеевна (Galitskaya Anna Alekseevna)**, к.б.н., доцент кафедры биохимии и биофизики биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, г. Саратов, Российская Федерация, ann.gal@mail.ru

**Коннова Светлана Анатольевна (Konnova Svetlana Anatolievna)**, д.б.н., профессор, зав. кафедрой биохимии и биофизики биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, г. Саратов, Российская Федерация, Konnovas@yandex.ru

**Семьячкина-Глушковская Оксана Валерьевна (Semyachkina-Glushkovskaya Oksana Valerievna)**, д.б.н., профессор, зав. кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, 410012, г. Саратов, Российская Федерация, glushkovskaya@mail.ru.

проводились в соответствии с требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990). Животных путем случайного отбора разделяли на 7 групп. Мышей 1 группы (самцы,  $n=6$ ), 3 группы (самки,  $n=6$ ) и 7 группы (самки,  $n=10$ ) кормили стандартным рационом, который включал: ячмень, овёс сухой, овёс проращенный, хлеб, яблоки, морковь. Животным группы 5 (самки,  $n=9$ ) к стандартному рациону ежедневно добавляли 0,2% раствор  $\text{NaNO}_2$  в питьевой воде; 6 группе (самки,  $n=9$ ) дополнительно вводили в стандартный рацион *p*-толуидин (2 г/кг пищи). *p*-толуидин давали животным вместе с кормом (с паштетом) натошак, расчет дозы осуществляли в соответствии с литературными данными [7]. Мышей групп 2 и 4 (самцы и самки, соответственно,  $n=10$ ) выдерживали на стандартном рационе с полной комбинацией химических веществ: раствор  $\text{NaNO}_2$  в питьевой воде и *p*-толуидин с кормом. Начиная с 35 дня эксперимента, всем группам, за исключением 7 (контроль, без стрессовых воздействий), был дополнительно введен физический стрессовый фактор – круглосуточное освещение (800 люкс).

Продолжительность всего эксперимента составляла 107 сут., промежуточный анализ был произведен спустя 79 сут. Определение биохимических показателей крови проводили в сыворотке крови животных после декапитации с помощью полуавтоматического биохимического анализатора «CLIMA MC-15», используя стандартные наборы реактивов производства ЗАО «Диакон-ДС». Определяли активность индикаторных ферментов: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), а также содержание мочевины (уреазным глутаматдегидрогеназным методом) и креатинина (по реакции Яффе без протеинизации).

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием критерия Манна-Уитни. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Полученные данные представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

**Результаты и обсуждение.** В ряде исследований отмечалось, что введение лабораторным животным нитритов в сочетании с аминами способствовало развитию злокачественных новообразований (лимфом, аденом легких) [8]. Нами исследовалось отдельное и сочетанное воздействие на лабораторных мышей нитрита натрия и амина на примере *p*-толуидина, в том числе, в условиях дополнительного светового стресса.

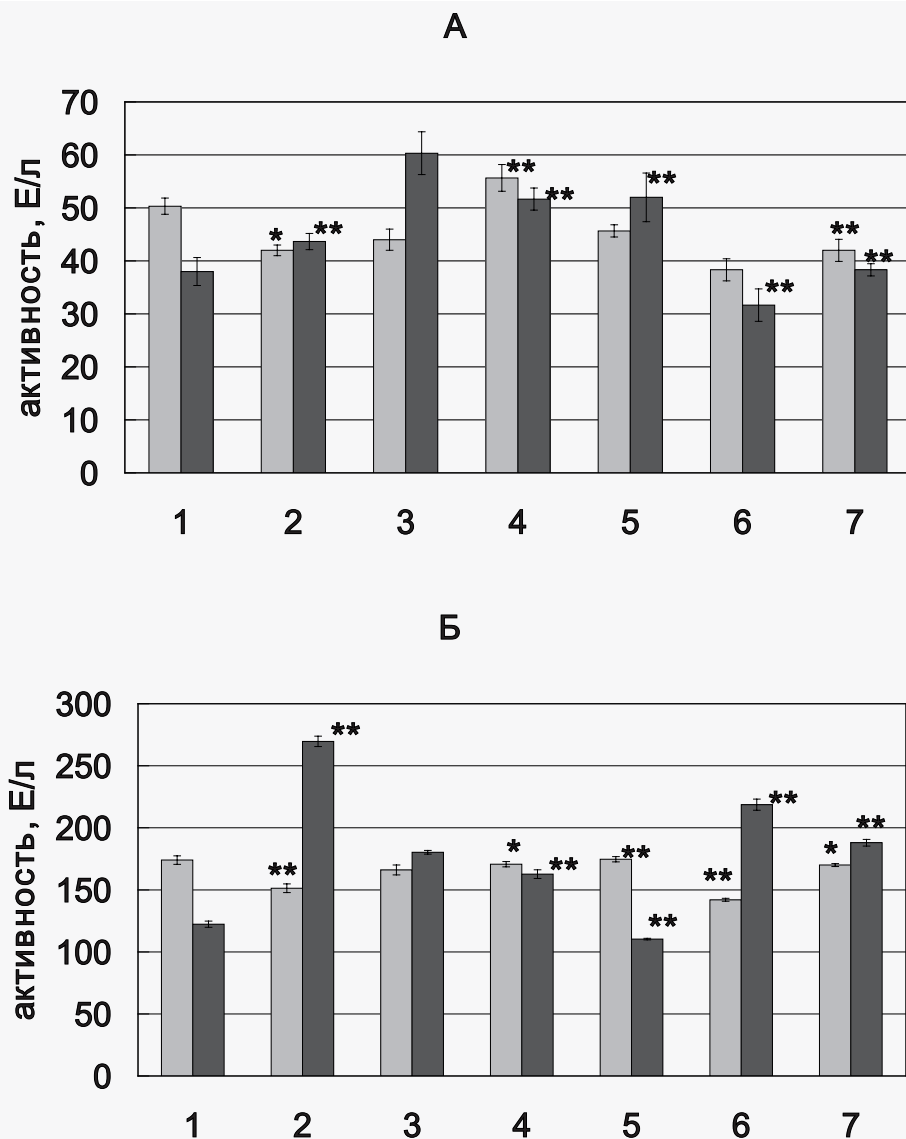
Как известно, определение активности аминотрансфераз имеет большую диагностическую ценность, повышение активности АЛТ является специфическим признаком заболевания печени,

АСТ – указывает на преимущественное поражение сердца [9]. Было установлено, что световой стресс приводит к увеличению активности АЛТ у самок мышей через 107 сут. в 1,4 раза, тогда как через 79 сут. она не отличалась от контрольных значений (рис. 1А). У самцов, находящихся под стрессовым воздействием, активность этого фермента на 79 сут. была на 10 единиц выше, чем у самок, снижаясь к концу эксперимента. Эти данные свидетельствуют о влиянии светового стресса на активность АЛТ у экспериментальных животных, которое проявляется у самцов на более ранних сроках.

Дополнительное введение нитрита, амина и их комбинации на фоне светового стресса оказало следующий эффект на активность АЛТ (рис. 1А). Достоверное повышение активности АЛТ через 79 сут. выявлено только у самок лабораторных мышей, получавших комбинацию нитрита и *p*-толуидина. Через 107 сут. эксперимента в группе 4 сохранялась повышенная активность фермента, также отмечалось повышение активности АЛТ у мышей, которым добавляли в пищу  $\text{NO}_2$ .

При этом выявлено достоверное повышение по сравнению со световым контролем активности фермента во всех опытных группах мышей, за исключением животных, которым в корм вводили только *p*-толуидин. Проведенные эксперименты показали, что нитрит и его сочетание с амином повышает активность АЛТ в сыворотке крови лабораторных животных (самок), что может свидетельствовать о гепатоксическом воздействии этих веществ.

Активность АСТ в сыворотке крови контрольных мышей через 79 сут. эксперимента находилась в диапазоне 166-188 Е/л, соответствуя нормальным показателям (рис. 1Б). Световой стресс не оказал существенного влияния на изменения активности АСТ, в отличие от АЛТ: в течение эксперимента в этих группах животных заметного изменения активности АСТ не выявлено. Дополнительная токсическая нагрузка через 79 сут. также не вызвала значительных изменений активности АСТ. Введение в корм самок мышей нитрита привело к достоверному (99%) повышению активности данного фермента, однако оно не превысило 5%; при этом *p*-толуидин вызвал снижение активности на 14%. Сочетанное действие токсикантов на фоне светового стресса в группе самцов привело к снижению данного показателя на 17%. Следует, однако, отметить, что через 107 сут. активность АСТ у самцов, получавших комбинацию нитрита и амина, возросла в 1,8 раза, у самок, получавших с кормом только амин – в 1,5 раза по сравнению с предыдущим измерением (рис. 1Б). По сравнению со значениями активности АСТ у мышей, подвергнутых только световому воздействию, в вышеуказанных группах ак-



**Рис. 1.** Активность ферментов в сыворотке крови мышей: А – АЛТ; Б – АСТ; В – ГГТ; Г – ЩФ

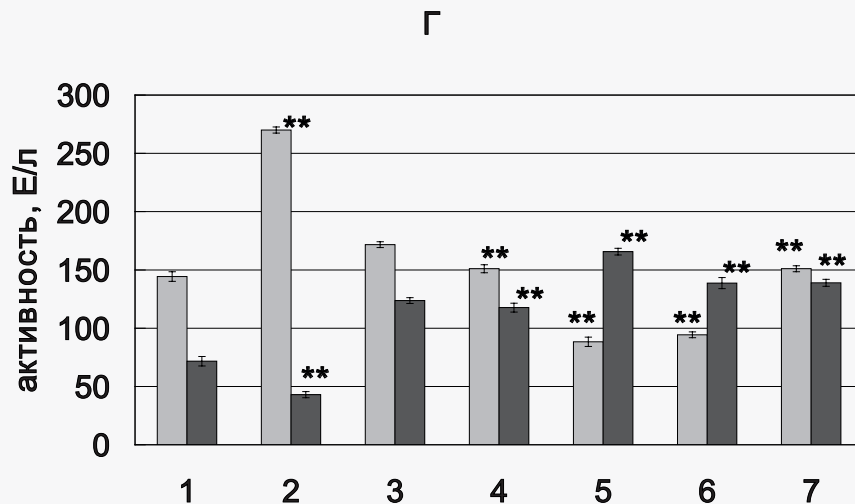
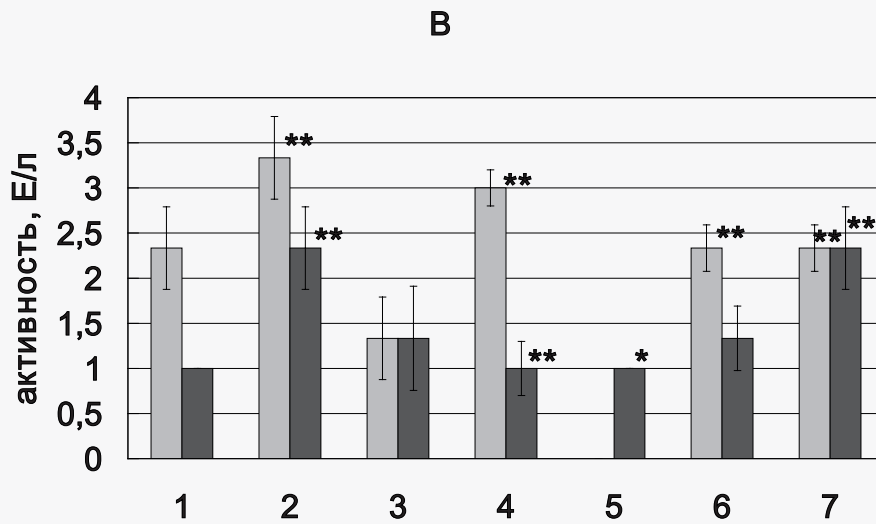
*Примечание:* \* – показатели с уровнем достоверности более 95% по сравнению с контролем); \*\* – показатели с уровнем достоверности более 99% по сравнению с контролем (контролем для 2 группы является группа 1; вторым контролем для 4, 5, 6, групп является группа 3).

тивность фермента была выше: у самцов – в 2,2 раза; у самок – в 1,2 раза. Таким образом, данные, полученные при длительном воздействии токсикантов, могут свидетельствовать о токсическом поражении печени и сердца.

Доказано, что активность ГГТ, как и аминотрансфераз, изменяется при действии стрессоров различной природы и зависит от силы и продолжительности воздействия стресса [9]. Известно, что повышение активности ГГТ в сыворотке крови наблюдается при заболеваниях желчевыводящих путей с явлениями обтурации, гепатитах, опухолях и метастазах в печень [10]. Снижение или отсутствие активности ГГТ связано с изменением синтеза белка, как это было обнаружено в злокачественных клетках [11].

В ходе настоящих экспериментов обнаружено, что через 79 сут. эксперимента активность ГГТ в сыворотке крови контрольной группы мышей (самок), которые содержались в нормальных условиях, составляла около 2 Е/л (рис. 1В). Аналогичные значения наблюдались у самцов, находящихся под световым стрессовым воздействием. У самок, подвергнутых воздействию света, этот показатель был примерно в 2 раза ниже и сохранялся в течение всего эксперимента. Через 107 сут. активность ГГТ уменьшилась в 2 раза и в группе самцов, находящихся в условиях светового стресса. Таким образом, влияние светового стресса на активность ГГТ у экспериментальных животных проявляется у самок на более ранних сроках.

Сочетанное действие нитрита и амина на фо-



не светового стресса привело в группах самцов и самок к достоверному увеличению активности фермента на 79-е сут. (рис. 1В). У самок, получавших с кормом п-толуидин, активность ГГТ была повышена по сравнению с группой 3 (световой стресс), но была сравнима с активностью у контрольной группы. Через 107 сут. активность данного фермента уменьшилась в группах с химическими реагентами и была на уровне контрольных значений или в 2 раза ниже. В группе самок, получавших с кормом нитрит, на протяжении эксперимента обнаруживались минимальные значения активности ГГТ в сыворотке крови мышей.

Обнаруженные нами в ходе эксперимента колебания значений активности ГГТ при совмест-

ном действии светового и химического стресса могут указывать на неспецифический характер этой реакции. Можно отметить также половые различия при изменении активности этого фермента под влиянием стрессоров.

Изменение активности ЩФ в сыворотке крови является диагностическим критерием состояния печени и костей [9]. По аналогии с АСТ, постоянное освещение в течение 79 сут. не повлияло на активность фермента. Показатели были в пределах 139-172 Е/л, что соответствует норме (рис. 1Г). Сочетание светового воздействия и полной комбинации токсических веществ, вводимых в пищу животных в течение 79 сут., способствовало достоверному увеличению активности ЩФ у самцов в 1,9 раза. У самок отмечалось сниженная

активность ЩФ у мышей всех опытных групп, получавших добавочные вещества, по сравнению с контролем (световой стресс). Через 107 сут. активность ЩФ в группах животных, находящихся в условиях светового стресса, уменьшилась по сравнению с предыдущим измерением у самок – в 1,4, у самцов – в 2 раза. При этом в группе 2 активность фермента снизилась по сравнению с предыдущим анализом в 6 раз и была в 1,7 раза ниже, чем в группе мышей со световым воздействием. У самок в конце эксперимента активность ЩФ была достоверно выше контрольных значений в группах, получавших с кормом нитрит и амин по отдельности. В целом, изменения активности ЩФ в исследованных группах были не однозначны, не позволяя судить о степени стрессовых нагрузок на организм животных.

Хроническое поступление избыточных количеств экзогенных химических веществ в организм является негативным фактором, способствующим патологическим изменениям в системе кровообращения и ткани почек [9]. В ходе эксперимента в сыворотке крови мышей определяли содержание мочевины – через 79 сут. и креатинина – через 107 сут. Концентрация мочевины в сыворотке крови животных в среднем варьировала в пределах 5,5-7,3 ммоль/л (табл. 1).

Максимальное значение наблюдалось у мышей группы 3. По сравнению с группой нестрессированных мышей этот показатель был увеличен в 1,4 раза. У самок мышей из групп с дополнительной химической нагрузкой содержание мочевины в сыворотке крови было достоверно снижено. Концентрация креатинина в сыворотке крови животных через 107 сут. варьировала от 25 до 40 мкмоль/л (табл. 1). Максимальное значение наблюдалось у мышей группы 1. У самцов, подвергнутых дополнительному химическому воздействию, содержание креатинина было в 1,3 раза ниже, чем в первой группе животных. Значимые различия по этому показателю у самок в опыт-

ных группах не выявлялись. Таким образом, выявленное увеличение изученных показателей белкового обмена у мышей вызвано главным образом воздействием светового стресса.

Гистологическое исследование желудка и печени, произведенное в ходе промежуточного и окончательного анализов, показало, что у мышей, подвергнутых сочетанному действию физических и химических факторов, а также отдельно воздействию нитрита натрия, наблюдаются изменения преджелудка, в слизистой которого были выявлены признаки ороговения и гидрорической дистрофии эпителия. Поскольку преджелудок мышей покрыт многослойным неороговевающим эпителием [12], явление лейкоплакии можно рассматривать как проявление предраковых необратимых изменений в органе.

**Заключение.** В настоящем исследовании установлено, что световой стресс вызывает повышение активности АЛТ у экспериментальных животных, которое проявляется у самцов при более короткой продолжительности воздействия. Это может свидетельствовать о повреждении мембран клеток печени в этих условиях. Обнаруженное нами снижение активности ГГТ под действием светового стресса, которое проявляется у самок на более ранних сроках, может указывать на изменение синтеза белка. Отмечено некоторое увеличение содержания мочевины и креатинина у мышей под воздействием светового стресса.

Показано, что химическое воздействие в сочетании со световым приводит к увеличению активности аминотрансфераз (АЛТ и АСТ), отражающих вероятное возрастание проницаемости мембран не только клеток печени, но и сердечной мышцы. Причем при более длительной экспозиции возможно усиление кардиотоксического действия. На гепатоксическое действие сочетания светового и химического стресса указывает также зарегистрированное повышение активности ЩФ в сыворотке крови животных, которое обна-

Таблица 1

Показатели белкового обмена у лабораторных животных

Показатели	Группы						
	1	2	3	4	5	6	7
Мочевина ммоль/л	5,89± 0,19	5,73± 0,10	8,91± 0,15	7,24± 0,01**	5,44± 0,21**	5,88± 0,23**	6,21± 0,18**
Креатинин, мкмоль/л	51,00± 2,08	39,67± 2,19**	30,33± 1,45	35,67± 0,33**	35,33± 2,03**	24,67± 1,76**	35,00± 2,08**

**Примечание:** \*\* - показатели с уровнем достоверности более 99% по сравнению с контролем (контролем для 2 группы является группа 1; вторым контролем для 4, 5, 6, групп является группа 3).

руживается у самцов на более ранних сроках эксперимента, у самок – на более поздних.

Выявлено, что изменения активности сывороточной ГГТ при комбинированном действии стрессоров различной природы носит неспецифический характер.

В целом, установленные изменения активности исследованных показателей свидетельствуют о

широком спектре негативного сочетанного действия химического и физического стресса на организм лабораторных животных.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гос. задания Минобрнауки России (проектная часть № 17.488.2014/К).*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Compare D., Rocco A., Nardone G. Risk factors in gastric cancer. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2010; 14: 302-308.
2. Wei-Hua Jia, Xiang-Yu Luo, Bing-Jian Feng, Hong-Lian Ruan, Jin-Xin Bei, Wen-Sheng Liu et al. Traditional Cantonese diet and nasopharyngeal carcinoma risk: a large-scale case-control study in Guangdong, China. *BMC Cancer*. 2010; 10: 446-452.
3. Jakszyn P., González C.A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence. *World J Gastroenterol*. 2006; 12 (27): 4296-4303.
4. Özdestan Ö., Üren A. Nitrate and nitrite contents of baby foods. *Akademik Gıda*. 2012; 10 (4): 11-18.
5. Hord N.G., Tang Y., Bryan N.S. Food sources of nitrates and nitrites: The physiologic context for potential health benefits. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 90: 1-10.
6. Mensinga T.T., Speijers G.J., Meulenbelt J. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicol. Rev.* 2003; 22: 41-51.
7. Greenblatt M., Mirvish S., So B.T. Nitrosamine studies: induction of lung adenomas by concurrent administration of sodium nitrite and secondary amines in Swiss mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 1971; 46: 1029-1034.
8. IPCS; Poisons Information Monograph G016: Nitrates and nitrites. (September 1996). Available from, as of October 24, 2006: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pimg016.html>.
9. Евдокимова О.В., Городецкая И.В. Влияние экспериментального гипотиреоза и малых доз L-тироксина на активность аминотрансфераз и гамма-глутамилтрансферазы в крови при действии стрессоров различного происхождения. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2013; 12 (4): 33-43.
10. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лаборатор-

ных исследований. М.: Медицина, 2011. 11. Koner B.C., Banerjee B.D., Ray A. Effects of stress on gamma glutamyltranspeptidase (GGT) activity in lymphoid system of rats: modulation by drugs. *Indian J Exp Biol*. 1997; 35 (3): 222-224.

12. Нарымбетова Т.М., Жуманазаров Н.А., Ишигов И.А., Асанова Г.Н., Мустафаева А.А., Кувандикова Ф.М. Структурные изменения слизистой оболочки желудка при экспериментальной гипокинезии. *Успехи современного естествознания*. 2011; 6. С. 20-26.

## REFERENCES:

1. Compare D., Rocco A., Nardone G. Risk factors in gastric cancer. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2010; 14: 302-308.
2. Wei-Hua Jia, Xiang-Yu Luo, Bing-Jian Feng, Hong-Lian Ruan, Jin-Xin Bei, Wen-Sheng Liu et al. Traditional Cantonese diet and nasopharyngeal carcinoma risk: a large-scale case-control study in Guangdong, China. *BMC Cancer*. 2010; 10: 446-452.
3. Jakszyn P., González C.A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence. *World J Gastroenterol*. 2006; 12 (27): 4296-4303.
4. Özdestan Ö., Üren A. Nitrate and nitrite contents of baby foods. *Akademik Gıda*. 2012; 10 (4): 11-18.
5. Hord N.G., Tang Y., Bryan N.S. Food sources of nitrates and nitrites: The physiologic context for potential health benefits. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 90: 1-10.
6. Mensinga T.T., Speijers G.J., Meulenbelt J. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicol. Rev.* 2003; 22: 41-51.
7. Greenblatt M., Mirvish S., So B.T. Nitrosamine studies: induction of lung adenomas by concurrent administration of sodium nitrite and secondary amines in Swiss mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 1971; 46: 1029-1034.
8. IPCS; Poisons Information Monograph G016: Nitrates and nitrites. (September 1996). Available from, as of October 24, 2006: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pimg016.html>.
9. Evdokimova O.V., Gorodetskaya I.V. Influence of experimental hypothyroidism and low doses of L-thyroxine on activity of transaminases and gamma-glutamyl transferase in the blood under the influence of stressors of different origins. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2013; 12 (4): 33-43.
10. Nazarenko G.I., Kishkun A.A. Clinical evaluation of the results of laboratory tests. М.: Meditsina, 20(in Russian)
11. Koner B.C., Banerjee B.D., Ray A. Effects of stress on gamma glutamyltranspeptidase (GGT) activity in lymphoid system of rats: modulation by drugs. *Indian J Exp Biol*. 1997; 35 (3): 222-224.
12. Narymbetova T.M., Zhumanazarov N.A., Ishigov I.A., Asanova G.N., Mustafaeva A.A., Kuvandikova F.M. Structural changes of gastric mucosa during experimental hypokinesia. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2011; 6: 20-(in Russian)

*E.V. Pleshakova<sup>1</sup>, M.V. Kanevskiy<sup>1</sup>, S.I. Yulaeva<sup>2</sup>, A.A. Galitskaya<sup>1</sup>, S.A. Konnova<sup>1</sup>, O.V. Semyachkina-Glushkovskaya<sup>1</sup>*

## EFFECT OF CHEMICAL FACTORS AND LIGHT STRESS ON BLOOD PARAMETERS OF LABORATORY ANIMALS

<sup>1</sup>N.G. Chernyshevsky Saratov State University, 410012, Saratov, Russian Federation

<sup>2</sup>Ltd «Medical and Diagnostic Center» Avesta», 410028, Saratov, Russian Federation

Individual and combined effects of sodium nitrite and amine (*p*-toluidine) including additional light stress conditions on laboratory mice were investigated. It has been established that the physical impact (light stress) for 107 days causes a significant increase in serum alanine aminotransferase activity and decrease of gamma-glutamyltransferase activity in laboratory mice. A slight increase in the studied parameters of protein metabolism (urea and creatinine) in mice exposed to light stress was observed. Under exposure additional to chemical stress (enteral injection of a combination of sodium nitrite and *p*-toluidine), the activity of the enzymes indicator in serum increases: alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase. A decrease in the activity of gamma-glutamyl transferase under combined action of stress conditions of various nature compared to the control was found. The observed effects of stress factors on the enzyme activity of blood serum correlate with pathomorphological changes in the esophagus and stomach.

Переработанный материал поступил в редакцию 6 мая 2016 г.

УДК 615.9

# ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЛАЗМАФЕРЕЗА С ПОМОЩЬЮ ИНФУЗИОННОГО АНТИГИПОКСАНТА ЦИТОФЛАВИНА ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ АЗАЛЕПТИНОМ

В.В. Шилов<sup>1,3</sup>, В.А. Лукин<sup>2</sup>,  
А.Ю. Андрианов<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава РФ, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup>Федеральное бюджетное учреждение науки «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**П**оиск эффективных методов лечения пациентов с острыми отравлениями, вызванными нейротропными веществами, обусловлен высокой частотой осложнений и летальностью при данной патологии. Целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка эффективности применения плазмафереза и плазмафеза в сочетании с антигипоксантами цитофлавином в качестве методов терапии острых отравлений азалептином тяжелой степени. Введение в интенсивную терапию субстратного антигипоксанта цитофлавина на фоне экстракорпоральных методов детоксикации (плазмафереза) положительно влияет на течение острых отравлений азалептином тяжелой степени и проявляется сокращением периода коматозного состояния, уменьшением развития легочных осложнений, сокращением сроков пребывания больных в отделении реанимации и интенсивной терапии и сроков лечения в стационаре, а также снижением летальности. Комбинированное применение плазмафереза и цитофлавина более значительно снижает гипоксию и эндогенную интоксикацию.

**Ключевые слова:** азалептин, острые отравления, цитофлавин, плазмаферез.

**Введение.** Острые отравления азалептином относятся к одним из наиболее тяжелых среди интоксикаций лекарственными препаратами нейротропного действия и сопровождаются высокой летальностью. Тяжесть состояния этой категории больных обусловлена специфическим действием ксенобиотика, развитием токсикогипоксической энцефалопатии, эндотоксикоза, высокой частотой развития осложнений, во многом определяющими как тяжесть течения клинической картины, так и исход химической травмы [1,2]. Поэтому терапия подобного отравления должна быть комплексной и направлена на лечение поражения ЦНС, снижение проявлений

гипоксии и эндогенной интоксикации [3]. В разработке методов терапии при острых отравлениях азалептином основной упор сделан на методы хирургической гемокоррекции [4,5]. Ранее нами было установлено, что среди этих методов приоритетным является плазмаферез [6]. Наряду с использованием плазмафереза для улучшения клинического течения острого отравления, снижения частоты развития осложнений в комплексной схеме лечения была предпринята попытка использовать в качестве корректора последствий гипоксических нарушений субстратный антигипоксанта с широким спектром фармакологического действия «цитофлавин» [7].

**Шилов Виктор Васильевич (Shilov Victor Vasilevich)**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой токсикологии, экстремальной и водолазной медицины ФГБОУ ВО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, vshilov@inbox.ru

**Лукин Вадим Анатольевич (Lukin Vadim Anatolevich)**, кандидат медицинских наук, заведующий отделением токсикологии №2 НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, Vadim.Lukin@mail.ru

**Андрианов Андрей Юрьевич (Andrianov Andrey Yurievich)**, заведующий отделением токсикологии №1 НИИ Скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, г. Санкт-Петербург, andrianov.and@mail.ru

Целью настоящей работы является сравнительная оценка эффективности плазмафереза и плазмафереза в сочетании с цитофлавином в интенсивной терапии у больных с острыми тяжелыми отравлениями азалептином.

**Материалы и методы исследования.** Материал исследования составили клинические наблюдения и результаты обследования 71 больного с острыми отравлениями азалептином тяжелой степени (45 мужчин и 26 женщин). Все больные госпитализировались в отделение реанимации ЦЛО НИИ СП им. И.И. Джanelидзе ввиду нарушения витальных функций: угнетения сознания до уровня комы II-III степени, а так же центральных нарушений функции внешнего дыхания, в связи с чем всем больным проводилась искусственная вентиляция легких (ИВЛ). Все обследованные пациенты были в возрасте от 22 до 59 лет. Распределение пациентов по группам осуществлялось в зависимости от проводимой терапии: 1) группа, в интенсивную терапию которой был включен плазмаферез (ПА) – 32 человека; 2) группа, интенсивная терапия которых включала в себя проведение плазмафереза и использование цитофлавина (ПА+ЦФ) – 39 человек. Контрольную группу при исследовании показателей эндотоксемии составили 10 физически здоровых лиц в возрасте от 20 до 35 лет (7 мужчин, 3 женщины).

Диагноз отравления верифицировали химико-токсикологическим исследованием биосред (кровь, моча). Количественное определение концентрации азалептина в крови проводилось методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ-МС).

Всем больным с острыми тяжелыми отравлениями азалептином проводили комплексное лечение, включающее восстановление проходимости дыхательных путей с проведением интубации трахеи, санацию трахеобронхиального дерева, ИВЛ респираторами «BIRD 8400STi», «Hamilton C-2», «Savina Drager, катетеризацию центральной вены, зондовое промывание желудка (ЗПЖ) с последующим введением энтеросорбента (полифепан 1 ст. ложка в 100-150 мл воды). Для коррекции волевических, метаболических, водно-электролитных нарушений, улучшения реологических показателей крови, создания гемодиллюзии (оптимальными считались показатели Ht 35-36 %) проводили инфузионную терапию с использованием кристаллоидных растворов (0,9 % NaCl, полиионные растворы, 5 % -10 % растворы глюкозы) и коллоидные растворы (декстраны, гидроксипропилкрахмалы) в соотношении 1:3. Объемы применяемых растворов зависели от тяжести состояния больного. Коррекция метаболического ацидоза проводилась раствором натрия гидрокарбоната в дозах, соответствующих расчетным на основании общепринятых формул. Для нор-

мализации электролитного баланса и профилактики нарушений ритма сердца вводили раствор калия хлорида. Всем больным назначались витамины (аскорбиновая кислота, тиамин бромид, пиридоксин гидрохлорид). Глюкокортикоидные препараты применялись внутривенно по показаниям. Антибактериальную терапию с использованием антибиотиков широкого спектра действия назначали при клинических проявлениях инфекционных осложнений с учетом данных чувствительности микробиологической флоры к антибиотиками. При наличии показаний проводилась симптоматическая терапия. Результаты дезинтоксикационной терапии оценивались с учетом повторных химических анализов крови и мочи.

Операция плазмафереза выполнялась в 1-е сутки госпитализации. Использовалась мембранная технология с применением отечественных перфузионных систем, ПФМ-800 и аппарата Гемос, а также мембранно-центрифужная технология на аппарате Autopheresis C фирмы Baxter вено-венозным доступом. Антикоагуляция достигалась комбинированным методом – общей гепаринизацией (в/в введение 5 тыс.ЕД) и регионарным введением 4%-го гидроцитрата натрия. Объем удаляемой плазмы составлял 1/3 объема циркулирующей плазмы. Цитофлавин вводился ежедневно внутривенно в объеме 20 мл (предварительно растворенных в 500 мл 10 % раствора глюкозы) 2 раза в сутки со скоростью 60 капель в минуту.

Определение олигопептидов (ОП) как маркеров эндогенной токсемии проводили по методу микроопределения пептидных связей с реактивом Лоури [7].

Количественное определение лактата проводилось колориметрическим методом с использованием наборов фирмы Roche (Швейцария) на биохимическом анализаторе COBAS INTEGRA (Франция).

Оценку лабораторных показателей проводили в динамике до и после применения лечебного воздействия, а так же на 1, 2, 3 и 5 сутки.

Полученные в процессе исследования медико-биологические данные обрабатывались на ЭВМ типа IBM-PC с помощью программной системы STATISTICA for Windows (версия 5.5). Числовые данные представлены в виде среднего математического и стандартной ошибки ( $M \pm m$ ).

**Результаты и обсуждение.** Исследование влияния цитофлавина на динамику элиминации азалептина из крови на фоне применения плазмафереза показало снижение концентрации ксенобиотика начиная с 3 суток, однако достоверных отличий по этому показателю между исследуемыми группами выявлено не было (табл. 1).

Наиболее выраженные клинические эффекты

были отмечены во 2-й группе больных, где продолжительность коматозного периода сократилась до  $33,9 \pm 8,6$  часа, что на 41,3% меньше, чем в группе больных у которых цитофлавин не применялся. Включение дополнительно к плазмаферезу в интенсивную терапию субстратного антигипоксанта цитофлавина существенно повышало эффективность проводимого лечения, что отражалось на достоверном сокращении длительности холинолитического синдрома. Длительность холинолитического синдрома в группе больных получивших только плазмаферез составила  $44,3 \pm 10,4$  часа, тогда как в группе больных, получавших ПА и ЦФ -  $34,59 \pm 9,7$  часа. Наиболее короткий срок пребывания в реанимационном отделении был у пациентов 2 – й группы, составляя  $83,1 \pm 14,4$  часа, что в 1,46 раза меньше, чем в группе больных получивших только плазмаферез. Также во 2-й группе больных отмечено наиболее выраженное снижение сроков лечения в стационаре, которые составили  $115,5 \pm 25,4$  часа, что в 1,6 раза меньше по сравнению с 1 -й группой. Приме-

нение цитофлавина отразилось и на летальности. В 1 - й группе из 32 пациентов умерло 5 человек (15,6%), во 2 - й группе - 4 больных из 39 обследованных, что составило 10,3%.

Таким образом, наиболее благоприятное течение острых отравлений азалептином выявлено в группе с использованием плазмафереза и цитофлавина, что отразилось на сокращении периода коматозного состояния, уменьшении развития легочных осложнений, сокращении сроков пребывания больных в отделении реанимации и интенсивной терапии и сроков лечения, а также уменьшении летальности (табл. 2).

На наш взгляд, тяжесть состояния больных обуславливают не только глубина токсического поражения головного мозга, но и вторичные нарушения гомеостаза, во многом определяющие тяжесть течения и исход химической травмы. Гипоксия, эндогенная интоксикация являются неперенными спутниками критического состояния, связанными с острым отравлением азалептином, а коррекция метаболических рас-

Таблица 1

**Изменение концентрации азалептина в плазме крови (мкг/мл)**

Группы исследования	поступление	1 сутки	2 сутки	3 сутки	5 сутки
ПА (n=32)	1,12 ± 0,11	0,83 ± 0,07	0,82 ± 0,04	0,62 ± 0,03	0,29 ± 0,01
ПА+ЦФ (n=39)	1,01 ± 0,12	0,84 ± 0,1	0,75 ± 0,08	0,54 ± 0,05	0,21 ± 0,05

Таблица 2

**Сравнительная оценка клинического течения острых отравлений азалептином тяжелой степени в зависимости от проводимой терапии**

Показатели	1 группа (n = 32)	2 группа (n=39)
Длительность комы (часы)	53,8 ± 9,6*	33,9 ± 8,6*
Длительность ИВЛ (часы)	57,4 ± 14,7*	37,5 ± 10,6*
Длительность холинолитического синдрома (часы)	44,3 ± 10,4*	34,59 ± 9,7
Развитие пневмонии, n (%)	10 (31,3)	9 (23,1)
Сроки пребывания в ОРИТ (часы)	121,6 ± 15,4*	83,1 ± 14,4*
Сроки пребывания в стационаре	187,8 ± 21,5*	115,5 ± 25,4*
Летальность абс.(%)	5 (15,6 %)	4 (10,3 %)

Примечание: \*- p<0,05

Таблица 3

## Изменения концентрации олигопептидов (г/л) у больных с острыми отравлениями азалептином тяжелой степени в зависимости от проведенного лечения (M±m)

Показатель	Контроль	Исходно	После	2 сутки	3 сутки
ОП вена плазма (ПА)	0,22 ± 0,05	0,30±0,01 #	0,21±0,01 *	0,24 ± 0,01	0,26 ±0,01
ОП вена плазма (ПА+ЦФ)		0,34 ± 0,02#	0,21±0,02 *	0,22 ± 0,01	0,22± 0,02
ОП вена эритроциты (ПА)	0,27 ± 0,02	0,40±0,02 #	0,3±0,01 # *	0,3±0,01 #	0,30±0,01 #
ОП вена эритроциты (ПА+ЦФ)		0,42±0,03 #	0,3±0,01*+	0,3±0,02	0,27±0,02
ОП артерия плазма (ПА)	0,2 ± 0,04	0,30±0,01 #	0,20±0,01 *	0,22±0,01	0,23±0,01
ОП артерия плазма (ПА+ЦФ)		0,32±0,02 #	0,19±0,02 *	0,22±0,02	0,20±0,02
ОП артерия эритроциты (ПА)	0,24 ± 0,03	0,41±0,02 #	0,30±0,02#*	0,3±0,02 #	0,30±0,02
ОП артерия эритроциты (ПА+ЦФ)		0,43±0,03 #	0,29±0,02 *	0,28±0,01	0,24±0,02 +
ОП моча (ПА)	0,3 ± 0,01	0,42±0,02	0,5±0,02 # *	0,46±0,02	0,40±0,01
ОП моча (ПА+ЦФ)		0,39±0,02	0,5±0,02 # *	0,44±0,04	0,37±0,02

# - различия с контрольными данными достоверны ( $p < 0,05$ ), -\* - различия с исходными данными достоверны ( $p < 0,05$ ), + - различия между группами ( $p < 0,05$ )

стройств во многом определяет течение и исходы интоксикации.

Тяжесть заболевания и риск неблагоприятного исхода находятся в непосредственной зависимости от уровня лактата крови. Концентрация лактата в крови является простым и в то же время информативным клиническим показателем адекватности тканевого кровоснабжения и оксигенации. Гиперлактатемия чаще всего свидетельствует о нарушении равновесия между системным обеспечением тканей кислородом и потребностью в нем. Уровень лактата в группе больных, у которых применялся только ПА, был без достоверных изменений и на 3-и сутки нахождения больных в стационаре составил  $2,59 \pm 0,54$  ммоль/л (норма  $1,2 \pm 0,21$  ммоль/л), ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало о продолжающейся гипоксии тканей. В группе, где использовали ПА в сочетании с ЦФ, отмечалось снижение уровня лактата до  $1,8 \pm 0,53$  ммоль/л и соответственно гипоксии тканей.

Таким образом, тяжесть больных при острых отравлениях азалептином обусловлена, помимо

специфических механизмов действия ядов, развитием гипоксии. На наш взгляд, коррекция гипоксии тканей, наряду с мерами традиционной интенсивной терапии, уже с момента поступления больных должна являться одной из основных составляющих интенсивной терапии острых отравлений азалептином.

Гипоксия связана с эндогенной интоксикацией, лабораторным критерием которой является увеличение в крови олигопептидов (ОП).

Наиболее выраженное снижение ОП на эритроцитах венозной и артериальной крови было отмечено в группе пролеченных ПА с ЦФ в сравнении с группой больных, у которых применялся только ПА (табл. 3).

Таким образом, эффекты ПА проявились уже сразу после проведения сеанса и характеризовались снижением концентрации олигопептидов в плазме и на эритроцитах артериальной и венозной крови с одновременным их повышением в моче. Наиболее выраженное снижение ОП в артериальной крови было отмечено в группе пролеченных ПА с ЦФ, что

свидетельствует о более низком терапевтическом эффекте ПА.

**Закключение.** Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что комбинированное использование цитофлавина в сочетании с плазмаферезом в схеме лечения

тяжелых форм острых отравлений азалептином позволяет улучшить клиническое течение острой интоксикации, снизить частоту осложнений, сократить сроки пребывания больных в стационаре и уменьшить летальность. что делает этот метод перспективным.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ермохина Т.В. Острые отравления азалептином (диагностика, клиника, лечение): Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2006.
2. Лужников Е.А., Суходолова Г.Н. Острые отравления у взрослых и детей. М: ЭКСМО; 2009.
3. Медицинская токсикология: национальное руководство / под ред. Е. А. Лужникова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.
4. Elliott E.S., Marken P.A., Ruehter V.L. Clozapine-associated extrapyramidal reaction. Ann Pharmacother. 2000; 34(5): 615 – 618.
5. Fadiran E.O., Leslie J., Fossler M., Young D. Determination of clozapine and its major metabolites in human serum and rat plasma by liquid chromatography using solid-phase extraction and ultraviolet detection. J. Pharm Biomed Anal. 1995; 13(2): 185 –190.
6. Шилов В.В., Александров М.В., Громов М.И., Фёдоров А.В., Андрианов А.Ю., Кузнецов О.А. Возможности применения методов экстракорпоральной детоксикации в лечении острых отравлений азалептином. Эфферентная терапия. 2009; 15 (3-4): 32 – 34.
7. Батоцыренов Б.В. Патогенетические основы интенсивной терапии неспецифических поражений в ранней фазе острых отравлений нейротропными ядами: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2002.
8. Малахова, М.Я. Методы биохимической регистрации эндогенной интоксикации. Эфферентная терапия. 1995; 1(1, 2): 61 – 64.
1. Ermokhina T.V. Acute poisoning azaleptin (diagnosis, clinical features, treatment) : Cand. pharm. sci. diss. Moscow; 2006 (in Russian).
2. Luzhnikov E.A., Sukhodolova G.N. Acute poisoning in adults and children . M : Eksmo ; 2009 (in Russian).
3. Medical Toxicology: national leadership / pod red. E. A. Luzhnikova M .: GEOTAR- Media 2012 (in Russian).
4. Elliott E.S, Marken P.A, Ruehter V.L. Clozapine-associated extrapyramidal reaction. Ann Pharmacother. 2000; 34(5): 615 – 618.
5. Fadiran E.O, Leslie J., Fossler M., Young D. Determination of clozapine and its major metabolites in human serum and rat plasma by liquid chromatography using solid-phase extraction and ultraviolet detection. J. Pharm Biomed Anal. 1995; 13(2): 185 – 190.
6. Shilov V.V., Aleksandrov M.V., Gromov M.I., Fedorov A.V., Andrianov A.Yu., Kuznetsov O.A. Features of application of methods of extracorporeal detoxification in the treatment of acute poisoning azaleptin. Efferent therapy. 2009; 15 (3-4): 32 – 34 (in Russian).
7. Batotsyrenov B.V. Pathogenetic bases of intensive therapy nonspecific lesions in the early phase of acute intoxication with neurotropic poisons. Dr. med. sci. diss. SPb; 2002 (in Russian).
8. Malakhova M.Ya. Methods Biochemical registration endogenous intoxication . Efferent therapy . 1995; 1 (1, 2): 61 – 64 (in Russian).

## REFERENCES:

V.V. Shilov<sup>1</sup>, V.A. Lukin<sup>2</sup>, A.U. Andrianov<sup>2,3</sup>

## PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF PLASMAPHERESIS EFFECTIVENESS USING INFUSION OF CYTOFLAVIN ANTIHYPOXANT IN ACUTE POISONING BY AZALEPTINI

<sup>1</sup> I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, 191015, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> I.I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Care, 192242, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup> Northwest Scientific Center of Hygiene and Public Health, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 191036, Saint-Petersburg, Russian Federation

Search for effective treatment methods for patients with acute poisoning caused by neuroleptics was motivated by frequent complications and lethality induced by that type of pathology. The object of the present study was a comparative evaluation of application effectiveness of plasma ferase and plasma ferase in combination with antihypoxic cytoflavin as therapy methods to cure acute severe poisonings with azaleptini. The inclusion of substrate anti hypoxic cytoflavin in intensive therapy on the background of extra corporal detoxification methods ( plasma ferase) has a positive effect on the course of acute severe poisonings by azaleptini and manifests in a shorter duration of comatose state, lesser development of pulmonary complications, shorter terms of inpatient hospital treatment and decreased lethality as well. The combined use of plasma ferase and cytoflavin significantly reduces hypoxia and endogenous intoxication.

**Keywords:** azaleptini, acute poisonings, cytoflavin, plasma ferase

Материал поступил в редакцию 17.05.2016 г.

УДК 9.61.615.9:616.099-082

# ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ УГАРНЫМ ГАЗОМ

Е.В. Полозова<sup>1,2</sup>, В.В. Шилов<sup>2,4</sup>, А.С. Богачева<sup>1,2</sup>,  
Е.В. Давыдова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup>Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>4</sup>Научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**П**роведена оценка эффективности применения гипербарической оксигенации в комплексной терапии острых отравлений угарным газом в зависимости от наличия ингаляционной травмы. Показано, что при наличии термохимического поражения дыхательных путей сеансы гипербарической оксигенации, в основном, начинались в соматогенную фазу. Наличие термохимического поражения дыхательных путей III степени являлось противопоказанием к проведению сеансов гипербарической оксигенации, особенно у лиц старшей возрастной группы.

**Ключевые слова:** отравления, угарный газ, термохимическое поражение дыхательных путей, гипербарическая оксигенация.

**Введение.** В настоящее время способы лечения острых отравлений угарным газом основаны на терапии гипоксического синдрома, предупреждении осложнений, коррекции нарушенных функций нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной систем, водно-электролитного и кислотно-основного балансов, коррекции метаболических расстройств и микроциркуляции. Но центральное место среди лечебных мероприятий занимает оксигенотерапия [1,3,4,6,7,8].

Известно, что для лечения гипоксических состояний при отсутствии возможности использования кислородтранспортной функции гемоглобина успешно применяется метод «насыщения жидких сред организма» насыщения кислородом жидких сред организма – метод гипербарической оксигенации [3,4,5]. Многими авторами показан положительный клинический эффект гипербарической оксигенации при различных заболеваниях, а наличие острого отравления угарным газом считается абсолютным показанием к проведению сеансов гипербаротерапии [2,3,4,7,9].

Вместе с тем, в практической работе имеются серьезные препятствия к своевременному про-

ведению сеансов гипербарической оксигенации у больных с острыми отравлениями угарным газом. Главным из них является отсутствие даже в крупных российских городах реанимационных барокамер, позволяющих лечить тяжелых больных, нуждающихся в проведении искусственной вентиляции легких.

Кроме того, существует более десятка клинических противопоказаний к назначению ГБО, в том числе, и больным с острыми отравлениями угарным газом [7,8,9,10]. Наиболее часто в своей работе мы сталкивались с такими как нарушенное сознание (оглушение, сопор, кома), неадекватное поведение вследствие алкогольного опьянения или интоксикационного психоза.

А.В. Пирцхалава (1980) вообще категорично считает, что при острых отравлениях угарным газом наличие ожогов верхних дыхательных путей является противопоказанием к проведению сеансов гипербарической оксигенации.

В этой связи, целью настоящего исследования стала оценка эффективности гипербарической оксигенации при лечении острых отравлений угарным газом.

**Полозова Елена Валентиновна (Polozova Elena Valentinovna)**, профессор кафедры токсикологии и экстремальной медицины СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация; ведущий научный сотрудник ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья», доктор медицинских наук, доцент, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, doctorpolozova@yandex.ru

**Шилов Виктор Васильевич (Shilov Viktor Vasilevich)**, заведующий кафедрой токсикологии и экстремальной медицины СЗГМУ им. И.И. Мечникова, ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья», доктор медицинских наук, профессор, vshilov@inbox.ru

**Богачева Александра Сергеевна (Bogacheva Aleksandra Sergeevna)**, доцент кафедры токсикологии и экстремальной медицины СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация; научный сотрудник ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья», кандидат биологических наук, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, baltagy@ist.ru

**Давыдова Елена Владимировна (Davydova Elena Vladimirovna)**, доцент кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, кандидат медицинских наук, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, davilena@yandex.ru

**Материалы и методы исследования.** Материалы исследования составили клинические наблюдения и результаты обследования 1012 больных с острыми тяжелыми отравлениями угарным газом в возрасте от 31 до 56 лет. Все больные на начальном этапе госпитализировались в отделение реанимации Санкт-Петербургского Центра лечения отравлений НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе ввиду нарушения витальных функций.

Исходя из задач исследования, больные были распределены на следующие группы: в первую группу вошли пациенты с острыми отравлениями угарным газом, осложненными термохимическим поражением дыхательных путей I-III степеней (отравление СО с ТХП ДП) (244 человек); группу сравнения составили 678 человек с острыми изолированными отравлениями окисью углерода (отравление СО).

Для лечения острой токсической гипоксии при острых отравлениях угарным газом больным в комплексную терапию было включено проведение сеансов гипербарической оксигенации (ГБО) согласно Руководству по гипербарической оксигенации под редакцией С.Н. Ефуни [2].

Сеансы ГБО больным проводили в отделении гипербарической оксигенации Санкт-Петербургского НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе в отечественной одноместной барокамере «ОКА-МТ» при режиме давления 1,7 атм. Продолжительность изопрессии 40 минут. Время компрессии и декомпрессии составляло 10 минут. Продолжительность сеанса в среднем составила 60 мин. Первый сеанс проводился через 10-12 ч после поступления больных в отделение токсикологической реанимации. Вторым и последующие сеансы больные получали через 20-24 ч после предыдущего.

Длительность курса лечения и величину рабочего давления подбирали индивидуально в зависимости от клинического состояния и результатов функциональных методов исследования. В среднем курс лечения состоял из 3-5 сеансов (1 сеанс в сутки в период лечения больных в отделении токсикологической реанимации).

**Результаты и обсуждение.** Схема проведения сеансов ГБО у больных с острыми тяжелыми отравлениями угарным газом представлены в таблице.

Согласно представленным данным, в сумме метод гипербарической оксигенации применялся у 65,6 % больных с острыми тяжелыми отравлениями угарным газом. Однако если при изолированных отравлениях угарным газом гипербарическая оксигенация применялась у 50,9 % больных, то при наличии ингаляционной травмы этот метод лечения использовался в 1,6 раза чаще - в 80,2 % случаях. В то же время в ранние сроки – в 1-е сутки после отравления – у больных с термохимическим поражением дыхательных путей ГБО, наоборот, применялась в 2,2 раза реже.

Сроки начала лечения методом гипербарической оксигенации находились в прямой зависимости от тяжести поражения дыхательных путей. Так, если при изолированных отравлениях угарным газом в большинстве случаев сеансы ГБО начинались с 1-х суток от момента поступления в клинику, то при острых отравлениях СО в сочетании с ингаляционной травмой I – II степени лечение начиналось через 24 – 48 часов, а при III степени ТХП ДП первый сеанс ГБО больные получали на 3-4 сутки стационарного лечения.

Как правило, после сеанса гипербарической оксигенации состояние пострадавших улучшалось, что выражалось в субъективном облегчении дыхания, уменьшением одышки, улучшением отхождения мокроты, стабилизировался пульс, улучшались показатели газового состава крови. Однако в процессе наблюдения в группе больных с термохимической травмой III степени тяжести, которым не требовалось проведения искусственной вентиляции легких (119 человек), мы столкнулись с проблемой возникновения осложнений после проведения сеанса гипербарической оксигенации. Было отмечено, что в 1-е сутки на первом сеансе ГБО в 44,5 % случаях (53 пациента), независимо от применения в схемах лечения ацидоза, отмечалось ухудшение состояния пациентов после сеанса ГБО, что выра-

Таблица

**Схема проведения сеансов ГБО у больных с отравлениями угарным газом**

Виды отравлений	Удельный вес больных, получивших ГБО (%)	Удельный вес больных, получивших ГБО в 1-е сутки (%)	Средние сроки начала проведения ГБО (сут)
Отравление СО (n = 768)	50,9	29,4	1 - 2
Отравление СО в сочетании ТХП ДП (n = 244), в т.ч.	80,2 *	13,2*	
ТХП ДП I степени (n = 22)	68,2	18,2	1 - 2
ТХП ДП II степени (n = 47)	83,0	17,0	1 - 2
ТХП ДП III степени (n = 175)	89,1	12,6	3 - 4

Примечание: \* - различие с контролем достоверно (p < 0,05).

жалось в развитии слабости, затруднении дыхания, больные предъявляли жалобы на закладывание в ушах, появление сухого кашля, что требовало прекращения сеанса ГБО. При возобновлении сеансов у таких больных со 2-х суток стационарного лечения у пациентов вновь возникали жалобы, но в меньшем объеме, что также требовало прекращения сеанса ГБО. И только с 3-х суток сеансы гипербарической оксигенации не сопровождались развитием осложнений. Необходимо отметить, что, в большинстве случаев, осложнения после сеанса ГБО наблюдались у пациентов в возрастной группе старше 66 лет. Ухудшение состояния после сеанса ГБО, по-видимому, было связано с нарастанием отека слизистой дыхательных путей.

В наших наблюдениях у троих пациентов с острыми отравлениями угарным газом, осложненных ТХП ДП III степени, после сеанса ГБО отмечалось развитие дыхательной недостаточности, в

результате чего больные переводились на искусственную вентиляцию легких.

**Заключение.** Таким образом, при наличии термохимического поражения дыхательных путей сеансы гипербарической оксигенации, в основном, начинались в соматогенную фазу и были направлены на ускорение токсического процесса. Отсутствие начала сеансов гипербаротерапии в токсигенную фазу было связано с проведением искусственной вентиляции легких, наличием противопоказаний, в основном, со стороны психической сферы, обусловленные неадекватным поведением больных в результате, главным образом, клиническими проявлениями синдрома отмены алкоголя, либо появлением симптоматики, свидетельствующей об ухудшении состояния. По-видимому, наличие термохимического поражения дыхательных путей III степени является противопоказанием к проведению сеансов ГБО, особенно у лиц старшей возрастной группы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афанасьев В.В. Неотложная токсикология / В.В. Афанасьев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 20– 384 с.
2. Ермолов А.С. Роль ГБО в лечении постгипоксической энцефалопатии токсического генеза / А.С. Ермолов, Н.М. Епифанова, М.В. Ромасенко, Е.А. Лужников, А.И. Ишмухаметов // Анестезиология и реаниматология. – 19- № – С. 20 – 25.
3. Ефун С.Н. Актуальные проблемы гипербарической оксигенации / С.Н. Ефун // Гипербарическая оксигенация. – М., 19- С. 4 – 14.
4. Ефун С.Н. Руководство по гипербарической оксигенации / С.Н. Ефун. – М.: Медицина, 19- 416 с.
5. Зальцман Г.Л. Основы гипербарической физиологии / Г.Л. Зальцман. – Л.: Наука, 19- 312 с.
6. Лужников Е.А. Эндотоксикоз при острых отравлениях / Е.А. Лужников, Ю.С. Гольдфарб, А.М. Марупов. – М.: БИНОМ, 20– 200 с.
7. Пирцхалава А.В. Особенности клиники и лечения острых отравлений окисью углерода / А.В. Пирцхалава, Е.А. Лужников

- // Неотложная клиническая токсикология: руководство для врачей // под редакцией академика РАН, проф. Е.А. Лужникова. – М.: «МЕДПРАКТИКА-М». – 20- С. 555 - 562.
8. Полозова Е.В. Особенности клинического течения острых отравлений угарным газом, осложненных термохимическим поражением дыхательных путей / Е.В. Полозова, В.В. Шилов, А.Ю. Андрианов // Вестник Военно-медицинской академии. – 20- № – С. 166 – 167.
  9. Шилов В.В. Показатели функции внешнего дыхания при использовании небу-

- лайзерной терапии в комплексном лечении пострадавших с отравлениями угарным газом при пожаре / В.В. Шилов, М.В. Александров, О.А. Кузнецов, С.А. Васильев, Е.В. Полозова, Т.В. Александрова // Скорая медицинская помощь. – 20- № – С. 78 – 82.
10. Шпектор В.А. Гипербарическая оксигенация и ее воздействие на организм / В.А. Шпектор, Е.А. Демуров // Вопросы гипербарической медицины. Приложение к научно-практическому журналу «Вестник интенсивной терапии». – 20- № 3. – С. 2 – 13.

## REFERENCES:

1. Afanasiev V. V. Emergency toxicology / Vladimir Afanasiev. – M.: GEOTAR-Media, 20– 384 p. (in Russian)
2. Ermolov A. S. the Role of HBO in the treatment of posthypoxic encephalopathy of toxic Genesis / A. S. Ermolov, N. M. Epifanova, mV Romasenko, Luzhnik E. A., A. I. Ishmukhametov // Anesthesiology and reanimatology. – 19- No. – S. 20 – 25. (in Russian)
3. Efuni S. N. Actual problems of hyperbaric oxygenation / S. N. Efuni // Hyperbaric oxygenation. – M., 19Pp. 4 – 14. (in Russian)
4. Efuni S. N. Guidance on hyperbaric oxygenation / S. N. Efuni. – M.: Medicine, 19– 416 p. (in Russian)
5. Zaltsman, G. L. fundamentals of hyperbaric physiology / G. L. Salzmann. – L.: Nauka, 19312. (in Russian)
6. Luzhnik E.A. Endotoxiosis in acute poisoning / Luzhnik E. A., Goldfarb Yu. s., A. M. Marupov. – M.: BINOM, 20– 200 p. (in Russian)
7. Pirtskhalava A.V. Peculiarities of the clinical picture and treatment of acute poisonings with carbon monoxide / A.

- V. Pirtskhalava Luzhnik E. A. // clinical Emergency toxicology: a guide for physicians // under the editorship of academian of RAMS, Professor E. A. Luzhnikov. – M.: "medical practice-M". – 20- P. 555 - 562. (in Russian)
8. E. V. Polozova clinical Features of acute carbon monoxide poisoning complicated thermochemical affecting the respiratory tract / E. V. Polozov, V. V. Shilov, A. Andrianov, Y. // Bulletin of the Military medical Academy. – 20- No. – S. 166 – 167. (in Russian)
  9. Shilov V. V. Indicators of respiratory

- function when using a nebulizer therapy in complex treatment of patients with carbon monoxide poisoning in a fire / V. V. Shilov, V. M. Aleksandrov, O. A. Kuznetsov, S. A. Vasilev, E. V. Polozov, T. V. Alexandrov // Ambulance. – 20- No. – P. 78 – 82. (in Russian)
10. Spector V. A. Hyperbaric oxygenation and its effect on the body / V. A. Spector, E. A. Demurov // Questions of hyperbaric medicine. Application to scientific and practical journal "Bulletin of intensive therapy". – 20- № 3. – С. 2 – 13. (in Russian)

*E.V. Polozova<sup>1,2</sup>, V.V. Shilov<sup>2,4</sup>, A.S. Bogacheva<sup>1,2</sup>, E.V. Davydova<sup>3</sup>*

## EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF HYPERBARIC OXYGENATION IN ACUTE CARBON MONOXIDE POISONING

<sup>1</sup>I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, 191015, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup>Northwest Scientific Center of Hygiene and Public Health, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 191036, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup>S.M. Kirov Military Medical Academy. Ministry of Defense of the Russian Federation 194044, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>4</sup>I.I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Care, 192242, St.Petersburg, Russian Federation

The application effectiveness of hyperbaric oxygenation in complex therapy of acute intoxication by carbon oxide gas was carried out depending on inhalation injury. It was shown that in the presence of airways thermo-chemical lesions, hyperbaric oxygenation sessions mainly began in the somatogenic phase. The presence of the third-degree injury of airways posed a contraindication for hyperbaric oxygenation sessions, especially in older persons.

**Keywords:** poisonings, carbon oxide gas, thermo-chemical injury of airways, hyperbaric oxygenation

Материал поступил в редакцию 17.05.2016 г.

УДК 57.044 : 615.099

# ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ПЕРСОНАЛА ОБЪЕКТОВ ХРАНЕНИЯ И УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

Т.В. Харченко<sup>1,2</sup>, Л.Г. Аржавкина<sup>1</sup>,  
А.В. Язенок<sup>1</sup>, Д.И. Синячкин<sup>1</sup>,  
А.Н. Жекалов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация.

Генотоксическое действие сверхмалых доз токсичных химикатов может являться одним из механизмов возникновения отдаленных эффектов для здоровья. Для его оценки проведен анализ хромосомных aberrаций (ХА) у 138 человек из числа персонала объектов хранения и уничтожения химического оружия (Объектов). Контрольная группа составила 55 человек. Показано статистически значимое увеличение уровня ХА ( $5,10 \pm 0,29$  против  $1,67 \pm 0,21$ ;  $U=1471$ ;  $p=0,0001$ ), главным образом за счет ХА хроматидного типа – одиночных фрагментов ( $3,98 \pm 0,25$  против  $1,20 \pm 0,16$ ,  $U=1503$ ;  $p=0,0001$ ) и хроматидных обменов, ( $0,12 \pm 0,03$  против  $0,00 + 0,03$ ,  $U=3248$ ;  $p=0,002$ ), что является характерным для химического мутагенеза. Наблюдалось также статистически значимое увеличение уровня нестабильных обменных aberrаций хромосомного типа ( $0,17 \pm 0,03$  против  $0,03 \pm 0,02$ ;  $U=3190$ ;  $p=0,003$ ), возможно, за счет синергетического действия токсикантов и физических факторов. Среднее число ХА на одну клетку значительно превышало контрольные значения ( $1,09 \pm 0,02$  против  $1,00 \pm 0,00$ ;  $U=2733$ ;  $p=0,0001$ ). Показаны статистически значимые различия в распределении лиц с различным уровнем ХА среди персонала Объектов и в контрольной группе. Полученные данные говорят о выраженном генотоксическом эффекте и возможности использования анализа ХА для оценки индивидуального профессионального риска у персонала Объектов.

**Ключевые слова:** генотоксичность, химическое оружие, хромосомные aberrации, генетический риск, отдаленные последствия для здоровья.

**Введение.** Обеспечение безопасности, в том числе жесткий контроль за состоянием здоровья персонала, включая снижение риска возникновения отдаленных эффектов для здоровья, является одной из ключевых задач процесса уничтожения химического оружия [1],

Генотоксические эффекты в виде мутаций, возникающих в соматических клетках, являются важнейшим из механизмов как формирования непосредственно токсических эффектов через изменение экспрессии генов [2], так и возникновения отдаленных последствий для здоровья.

Персонал Объектов постоянно контактирует с токсичными химическими веществами, в мониторинг Объектов включено более 300 приоритетных загрязнителей, наиболее опасных в токсикологическом и эколого-гигиеническом плане. В режиме штатного функционирования концентрация каждого из токсикантов находится в пределах ПДК, однако их сочетанное действие может вызывать синергетический эффект. Кроме того, в настоящее время при оценке опасности мутагенов для человека принята концепция беспороговости, согласно которой

**Харченко Татьяна Владимировна (Kharchenko Tatyana Vladimirovna)**, кандидат биологических наук, зав.кафедрой медицинской генетики ФГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, tatyana.kharchenko@szgmu.ru

**Аржавкина Лейла Гусейновна (Arjavkina Leyla Guseinovna)**, кандидат биологических наук, ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация vanadzor\_@ Rambler.ru

**Язенок Аркадий Витальевич (Yazenok Arcadij Vital' evich)** доктор медицинских наук, доцент кафедры военно-полевой терапии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация arkuzenok@yandex.ru .

**Синячкин Дмитрий Александрович (Siniachkin Dmitriy Aleksandrovich)** кандидат медицинских наук, ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация d.sinyachkin@mail.ru

**Жекалов Андрей Николаевич (Zhekalov Andrey Nikolaevich)** доктор медицинских наук, нач. НИЛ военной терапии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

генотоксические эффекты могут быть вызваны сколь угодно малыми дозами мутагенов [3]. Риск развития неблагоприятного эффекта для здоровья, особенно при воздействии низких эффективных доз, может существенно изменяться благодаря межиндивидуальным генетическим различиям, у лиц с повышенной чувствительностью нельзя исключить возникновения генотоксического эффекта даже при соблюдении гигиенических нормативов [4].

Анализ ХА является одним из наиболее чувствительных методов оценки генотоксичности. Изменения уровня ХА не только позволяют оценивать наличие воздействия, но и являются биоиндикаторами риска для здоровья. При этом имеет значение не только общий уровень ХА, но и характер возникающих нарушений [5]. В связи с этим анализ ХА у персонала Объектов представляется весьма актуальным.

**Материалы и методы исследования.** Обследовано 138 мужчин из числа персонала Объектов хранения и уничтожения химического ору-

жия в возрасте от 22 до 48 лет (средний возраст  $33,8 \pm 0,64$ ). Контрольную группу составили 55 мужчин, не имевших отношения к работе с химическим оружием и не проживающих на территориях, где располагаются Объекты. Средний возраст в этой группе составил  $31,7 \pm 2,5$  год. Анализ хромосомных aberrаций проводили в культивированных лимфоцитах периферической крови в соответствии с критериями ВОЗ [6], учитывали все нестабильные ХА, распознаваемые без дифференциального окрашивания. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica for Windows 6.0 с использованием непараметрических критериев: Манна-Уитни и точного критерия Фишера.

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенного исследования установлено, что и общий уровень ХА, и частоты отдельных типов aberrаций у персонала Объектов в статистически значимо превышали контрольные значения (табл. 1).

У персонала Объектов выявлены одиночные

Таблица 1

### Частота и спектр хромосомных aberrаций у персонала Объектов и в контрольной группе

Показатель	Персонал	Контроль	U-критерий	p
Обследовано лиц	138 человек	55 человек		
Всего проанализировано метафаз	22765	9353		
Среднее число проанализированных метафаз	$165,2 \pm 4,78$	$170,05 \pm 5,32$		
Общая частота ХА –	$5,11 \pm 0,29$	$1,67 \pm 0,23$	1471	0,0001
Число ХА на одну aberrантную метафазу	$1,09 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,00$	2733	0,0001
Одиночные фрагменты	$3,98 \pm 0,25$	$1,20 \pm 0,16$	1503	0,0001
Хроматидные обмены–	$0,12 \pm 0,03$	$0,00 \pm 0,03$	3248	0,002
Дицентрики + кольца	$0,17 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,02$	3190	0,003
В т.ч. кольцевые хромосомы	$0,05 \pm 0,02$	$0,00 \pm 0,03$	3528	0,002
Атипичные моноцентрики	$0,08 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,02$	3581,5	0,1
Парные фрагменты	$0,65 \pm 0,08$	$0,41 \pm 0,08$	3380,5	0,1
Мультиaberrантные клетки	$0,09 \pm 0,02$	$0,00 \pm 0,03$	3144	0,002

и парные фрагменты, хроматидные обмены, дицентрические и кольцевые хромосомы, атипичные моноцентрики, клетки с множественными нарушениями.

Как видно из данных таблицы, общий уровень ХА у персонала Объектов многократно превышает контрольные показатели ( $5,10 \pm 0,29$  vs.  $1,67 \pm 0,21$ ,  $U=1471$ ;  $p=0,0001$ ). Основной вклад в структуру ХА вносят aberrации хроматидного типа: одиночные фрагменты ( $3,98 \pm 0,25$  vs.  $1,20 \pm 0,16$ ,  $U=1503$ ;  $p=0,0001$ ) и хроматидные обмены ( $0,12 \pm 0,03$  vs.  $0,00 \pm 0,03$ ,  $U=3248$ ,  $p=0,002$ ), что является характерным для химического мутагенеза.

Наряду с этим в обследованной группе наблюдался неожиданно высокий уровень нестабильных обменных aberrаций хромосомного типа ( $0,17 \pm 0,03$  vs.  $0,03 \pm 0,02$ ,  $U=3190$ ,  $p=0,003$ ), что может свидетельствовать о синергетическом действии на персонал комплекса токсикантов и факторов физической природы.

Частота кольцевых хромосом у персонала Объектов составила  $0,05 \pm 0,02$ , в контрольной группе кольцевые хромосомы не встречались ( $U=3528$ ;  $p=0,002$ ) что закономерно, поскольку в контрольных популяциях по России кольцевые хромосомы встречаются с частотой 1 на 10 000 клеток [7].

Обменные aberrации хромосомного типа способны персистировать в организме длительное время [8] и их появление может являться пусковым механизмом процессов возникновения отдаленных последствий для здоровья, при этом

риск для здоровья особенно велик у носителей кольцевых хромосом [9].

Групповая частота не дает адекватного представления об индивидуальных показателях, поэтому мы дополнительно проанализировали распределение лиц с различным уровнем ХА, а также частоту встречаемости лиц, несущих обменные aberrации. Среди персонала Объектов обменные aberrации хромосомного типа имели 38 человек (27,3%), в то время как из 55 лиц контрольной группы они встречались только у 3-х (5,45%),  $p=0,0003$  (рис. 1).

Согласно современным представлениям максимально возможная величина спонтанного увеличения числа ХА у отдельного индивидуума составляет 2,5% [10]. Уровень ХА свыше 2,5% относятся к категории генетического риска [11], причем уровень от 2,5 до 5% является показателем повышенного генетического риска, свыше 5% и до 10% включительно - высокого и свыше 10% - сверхвысокого. Распределение обследованных по группам с различным уровнем ХА не только является важной характеристикой когорты, но и помогает выделить группы для углубленного мониторингового наблюдения.

Мы проанализировали распределение лиц, относящихся к различным категориям генетического риска в группе персонала Объектов и в контрольной группе (рис. 2). В контрольной группе 76,86% обследованных (42 человека из 55) составили лица, с нормальным уровнем ХА, 20,0% (11 человек) обследованных относят-

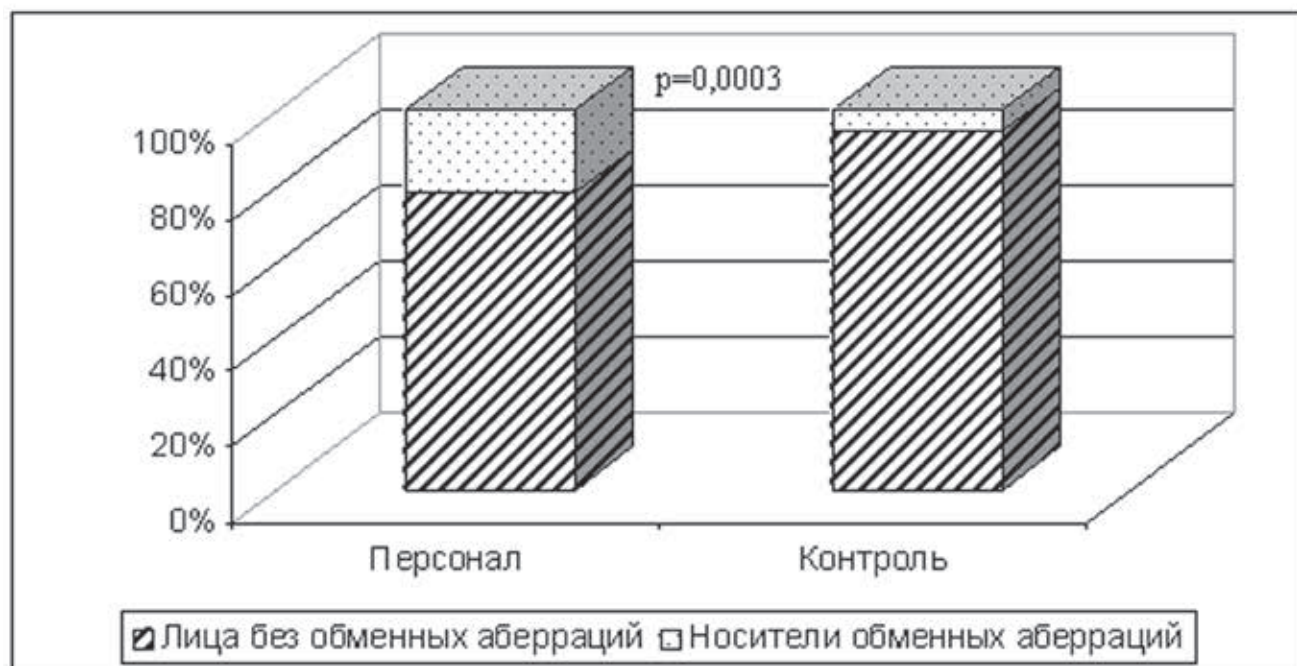


Рис. 1. Доля носителей обменных aberrаций хромосомного типа среди персонала Объектов и в контрольной группе

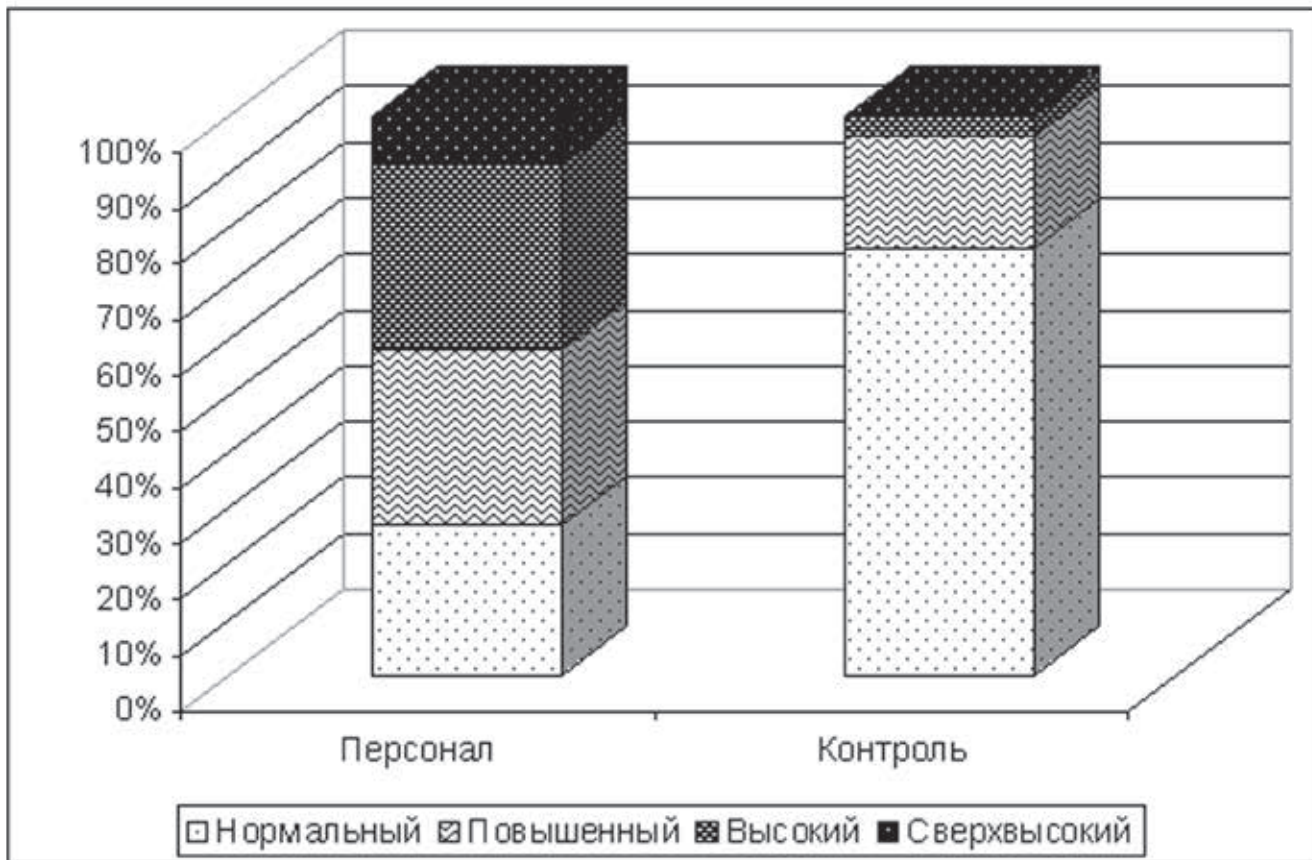


Рис. 2. Распределение групп с различным уровнем генетического риска у персонала Объектов и в контроле.

ся к группе повышенного генетического риска и лишь 3,6% - (2 человека) к группе высокого риска. Лиц со сверхвысоким уровнем ХА в контрольной группе не было.

У персонала Объектов нормальный уровень ХА наблюдался лишь у 26,81% (37 человек). К категории повышенного генетического риска относятся 31,6% персонала (42 человек), высокого риска – 33,33% (46 человек) и 8,7% (12 человек) можно было отнести к группе сверхвысокого генетического риска. Доля лиц, относящихся к категории высокого и сверхвысокого цитогенетического риска, превышала аналогичный показатель в контрольной группе в 11,7 раза ( $p=0,0000$ ). Важным критерием, отражающим глубину цитогенетических повреждений, является число ХА на одну aberrантную метафазу. В контрольной группе среднее число aberrаций на одну aberrантную метафазу равнялось единице. В группе персонала среднее число ХА на aberrантную метафазу составило  $1,11 \pm 0,02$ , ( $U = 2733$ ,  $p=0,0001$ ). При этом со статистически значимой частотой ( $0,09 \pm 0,02$ ;  $U=3144$ ;  $p=0,002$ ) наблюдались отсутствующие в контроле клетки с множественными повреждениями, содержащие не менее

двух обменных aberrаций или одной обменной и 4 фрагментов, что может свидетельствовать о нарушении процессов репарации поврежденного ДНК.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что у персонала Объектов наблюдается уровень ХА, статистически значимо превышающий контрольный, причем при высоком среднегрупповом уровне ХА наблюдался широкий индивидуальный разброс показателей.

Специфика работы на Объектах предполагает невозможность учета всех действующих на персонал токсикантов. Кроме того, дополнительные физические и психоэмоциональные факторы, различные индивидуальные особенности отдельных лиц могут существенно модифицировать их эффективность, что затрудняет разработку объективных критериев оценки индивидуального профессионального риска.

В этих условиях исследования ХА, позволяющие оценить уровень генотоксических повреждений у каждого конкретного человека являются незаменимыми.

**Заключение.** Многократное повышение частоты и изменение спектра ХА с появлением

большого количества обменных аберраций, увеличение числа ХА на одну аберрантную метафазу говорят о выраженном генотоксическом эффекте у персонала Объектов. Отличительной особенностью проявления генотоксического действия Объектов является высокая частота обменных аберраций как хроматидного, так и хромосомного типа, в том числе коль-

цевых хромосом, высокая частота клеток, несущих множественные обменные аберрации, а также значимое увеличение доли лиц, относящихся к категории высокого и сверхвысокого генетического риска. Цитогенетические показатели могут стать одним из объективных критериев оценки индивидуального профессионального риска у персонала Объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василенко О.А., Лось С.П. Система гигиенических мероприятий по профилактике заболеваний персонала, занятого на работах по уничтожению химического оружия. // Теоретическая и прикладная экология. – 2013. 4.98-103.  
 2. Mendrick D. L. Toxicogenomics and Classic Toxicology: How to Improve Prediction and Mechanistic Understanding of Human Toxicity Essential Concepts in Toxicogenomics / Edited by, W. B. Mattes Humana Press 2008: 277.  
 3. Дубинин Н.П. Избранные труды. Т.2. Радиационный и химический мутагенез М.: Наука, 2000: 466.

4. Каспаров А.А., Рева В.Д., Уйба В.Д. Основы безопасности, профессиональной и экологической медицины при уничтожении химического оружия в России. (Руководство для врачей) М.: ФГОУ ИПК ФМБА России, 2008. 743.  
 5. Silins I., Högborg J. Combined toxic exposures and human health: biomarkers of exposure and effect. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2011; 3: 629-647.  
 6. International programme on chemical safety. Guidelines for the Study of Genetic Effects in Human Populations. Environmental health criteria 46. Geneva: WHO; 1985: 126.

7. Севаньяев А.В., Хвостунов И.К., Снигирева Г.П. Сравнительный анализ результатов цитогенетических обследований контрольных групп лиц в различных отечественных лабораториях // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. 53,(1):5-24.  
 8. Mészáros G., Bognár G., Kóteles G.J. Long-term persistence of chromosome aberrations in uranium miners. // Occup Health. 2004 (4):310-315.  
 9. Bonassi S., Norppa H., Ceppi M., Stromberg U. et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a

pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries // Carcinogenesis. – 2008. 29, (6):1178-1183.  
 10. Wang Y., Yang H, Li L, Wang H, Xia X, Zhang C. Biomarkers of chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes induced by polycyclic aromatic hydrocarbons: a meta-analysis // Int. Arch. Occup. Environ. Health. 2012. 85, (1):13-25.  
 11. Назаренко С.А., Попова Н.А., Назаренко Л.П., Пузырев А.П. Ядерно-химическое производство и генетическое здоровье. // Томск: Печатная мануфактура, 2004:272 .

## REFERENCES:

1. Vasilenko O.A., Los' S.P. The system of hygienic measures for the prevention of diseases of personnel involved in work on chemical weapons destruction // Teoreticheskaya i prikladnaya ekhologiya. 2013. 4.98-103. . (in Russian).  
 2. Mendrick D. L. Toxicogenomics and Classic Toxicology: How to Improve Prediction and Mechanistic Understanding of Human Toxicity Essential Concepts in Toxicogenomics / Edited by, W. B. Mattes Humana Press 2008: 277.  
 3. Dubinin N.P. Selected works. Vol. 2. Radiation and chemical mutagenesis // M.: Nauka, 2000: 466. . (in Russian).

4. Kasparov A.A., Reva V.D., Ujba V.D. Foundation of safety, professional and ecological medicine during the chemical warfare destruction in Russia. (Handbook for phisytians) // M.: FGOU IPK FMBA Rossii, 2008. 743... (in Russian).  
 5. Silins I., Högborg J. Combined toxic exposures and human health: biomarkers of exposure and effect. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2011; 3: 629-647.  
 6. International programme on chemical safety. Guidelines for the Study of Genetic Effects in Human Populations. Environmental health criteria 46. Geneva: WHO; 1985: 126.

7. Sevan'kaev A.V., Khvostunov I.K., Snigireva G.P., Novitskaia N.N., Antoshchina M.M., Fesenko E.V. et al [Comparative analysis of cytogenetic examination of control groups of subjects carried out in different Russian laboratories]. Radiats. Biol. Radioecol. 2013; 53(1): 5-24. (in Russian).  
 8. Mészáros G., Bognár G., Kóteles G.J.. Long-term persistence of chromosome aberrations in uranium miners. // Occup Health. 2004 (4):310-315.  
 9. Bonassi S., Norppa H., Ceppi M., Stromberg U. et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort

study of 22 358 subjects in 11 countries // Carcinogenesis. – 2008. 29, (6):1178-1183.  
 10. Wang Y., Yang H, Li L, Wang H, Xia X, Zhang C. Biomarkers of chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes induced by polycyclic aromatic hydrocarbons: a meta-analysis // Int. Arch. Occup. Environ. Health. 2012. 85, (1):13-25.  
 11. Nazarenko S.A., Popova N.A., Nazarenko L.P., Puzyrev A.P. Nuclear chemical enterprises and genetic health Tomsk. Pechatnaya manufaktura , 2004. 272 (in Russian).

T.V. Kharchenko <sup>1,2</sup>, L.G. Arjavkina <sup>1</sup>, A.V. Yazenok <sup>1</sup>, D.A. Siniachkin <sup>1</sup>, A.N. Zhekalov <sup>1</sup>

## GENOTOXIC ALTERATIONS IN THE PERSONNEL OF CHEMICAL STOCKPILE DISPOSAL FACILITIES.

<sup>1</sup>S.M. Kirov Military Medical Academy, 194044, Saint-Petersburg, Russian Federation.

<sup>2</sup>I.I. Mechnikov, North-Western State Medical University, 191015, Saint-Petersburg, Russian Federation

Genotoxic effect of ultra-low doses of toxic chemicals may cause delayed health effects. For their assessment, chromosomal aberrations (CA) in 138 persons from among the staff of chemical weapons storage and destruction facilities( objects) were analyzed. The control group consisted of 55 people. A statistically significant increase in levels of CA (  $5.10 \pm 0.29$  vs.  $1.67 \pm 0.21$ ;  $U = 1471$ ;  $p = 0.0001$ ) was shown, mainly due to chromatid -type CA -single pieces ( $3.98 \pm 0.25$  versus  $1.20 \pm 0.16$ ,  $U = 1503$ ;  $p = 0.0001$ ) and chromatid exchanges, ( $0.12 \pm 0.03$  vs.  $0.00 \pm 0.03$ ,  $U = 3248$ ;  $p = 0,002$  ), which is typical to chemical mutagenesis. A statistically significant increase in the level of unstable exchanges of chromosomal-type aberrations ( $0.17 \pm 0.03$  vs.  $0.03 \pm 0.02$ ;  $U = 3190$   $p = 0.003$ ) was also observed, possibly due to the synergistic action of toxicants and physical factors. An average number of CA per cell was significantly higher than the control values ( $1.09 \pm 0.02$  vs.  $1.00 \pm 0.00$ ;  $U = 2733$ ;  $p = 0.0001$ ). Statistically significant differences in the distribution of individuals with different levels of CA among employees of the objects and in the control group were shown. Data obtained suggest a pronounced genotoxic effect and the possibility of using CA analysis to assess individual professional risk to the staff of the objects.

**Keywords:** genotoxicity; chemical weapon; chromosomal aberrations; genetic risk, delayed health effects.

Материал поступил в редакцию 24.05.2016 г.

УДК 615.099 : 543.544.5.068.7

# ОСОБЕННОСТИ ОБНАРУЖЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНТАНИЛА В МОЧЕ МЕТОДАМИ ГАЗОВОЙ И ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОМАСС- СПЕКТРОМЕТРИИ

О.Л. Заикина<sup>1</sup>, В.В. Шилов<sup>2</sup>, А.Н. Лодягин<sup>3</sup>,  
А.М. Григорьев<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ГКУЗ Ленинградский областной наркологический диспансер, химико-токсикологическая лаборатория, 188661, Ленинградская область, Всеволожский район, д. Новое Девятино, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава России, 195067, г.Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup>ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г.Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>4</sup>ГБУЗ МО «Бюро СМЭ», судебно-химическое отделение, 129110, г. Москва, Российская Федерация

**В** последнее время в Ленинградской области участились случаи отравления, связанные с приемом производных фентанила (карфентанил, 3-метилфентанил). Аналитическое подтверждение приема данных соединений лицами, доставляемыми в центральные районные больницы области с симптомами наркотического опьянения, вызывает определенные методические осложнения, которые вызваны низкими концентрациями токсикантов в крови и моче и ограниченностью сведений о метаболизме.

Используя методы жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС и ЖХ-МС/МС), мы идентифицировали некоторые мочевые метаболиты производных фентанила. Предложены методы подготовки проб, основанные на жидкостно-жидкостной или твердофазной экстракции. Для обнаружения метаболитов и неизмененных форм производных фентанила в моче и крови обследуемых лиц рекомендуется применение метода ЖХ-МС/МС. Приведены результаты практического применения разработанных методов.

**Ключевые слова:** отравление, производные фентанила, 3-метилфентанил, карфентанил, «дизайнерский наркотик».

**Введение.** Фентанил (N-phenyl-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidiny]-propan amide) – синтетический анальгетик, агонист  $\mu$ -опиоидных рецепторов, используемый в анестезиологии в качестве сильного обезболивающего [1]. По анальгетической активности фентанил превышает морфин в 100 раз [1,2]. После введения оказывает сильное, но кратковременное анальгезирующее действие [3,4].

Впервые фентанил был синтезирован Полом Янсеном (Paul Janssen) в 1960 году [5]. Затем фармацевтическая промышленность начала

разрабатывать производные фентанила, обладающие различной эффективностью, такие как альфентанил, суфентанил, ремифентанил и др.

Помимо терапевтического применения производных фентанила, встречаются злоупотребления этими препаратами, особенно 3-метилфентанилом, который был синтезирован подпольно в 80-ые г.г. XX в. США [6] и в РФ в нелегальной продаже появился в 1990 г. [7]. Пик злоупотребления 3-метилфентанилом в РФ пришелся на 2005-2006 г.г. в основном в за-

**Заикина Ольга Леонидовна (Zaikina OI'ga Leonidovna)**, врач химико-токсикологической лаборатории государственного казенного учреждения здравоохранения «Ленинградский областной наркологический диспансер» (ГКУЗ ЛОНД), 188661, Ленинградская область, Всеволожский район, дер. Новое Девятино, Российская Федерация, o.l.ya@mail.ru

**Шилов Виктор Васильевич (Shilov Viktor Vasil'evich)**, заведующий кафедрой токсикологии, экстремальной и водолазной медицины СЗГМУ им. И.И.Мечникова, 195067, г.Санкт-Петербург, Российская Федерация, tox@szgmu.ru

**Лодягин Алексей Николаевич (Lodjagin Aleksej Nikolaevich)**, руководитель отдела клинической токсикологии ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г.Санкт-Петербург, Российская Федерация, alodyagin@mail.ru

**Григорьев Андрей Михайлович (Grigor'ev Andrey Mikhaylovich)**, эксперт-химик судебно-химического отдела государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Бюро судебно-медицинской экспертизы» (ГБУЗ МО «Бюро СМЭ»), 129110 г. Москва, Российская Федерация, chzond4250@yandex.ru

падных и северо-западных регионах России [8]. Тем не менее, случаи незаконного использования таких производных фентанила, как 3-метилфентанил и карфентанил, в северо-западных регионах РФ (и особенно в Ленинградской области) в настоящее время также не являются редкостью.

В Эстонии массовые отравления 3-метилфентанилом со смертельным исходом начали регистрировать с 2005 г. [8]. По данным Европейского мониторингового центра по наркотикам и наркомании (EMCDA) количество смертей от передозировки в этой стране в 2012 г. было в 11 раз выше, чем в других европейских странах. При этом в 80 % случаях причиной смертельного исхода составляли производные фентанила [9].

3-метилфентанил и карфентанил (рис. 1) включены в Списки I и II, соответственно, Перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в РФ [10].

Карфентанил – производное фентанила, обладающее высокой эффективностью и значительным обезболивающим действием, является единственным средством, одобренным к применению в Соединенных Штатах для иммобилизации крупных животных [11]. Он используется главным образом в качестве инкапсанта для крупных животных, таких как слоны, носороги, волки, тюленей и белых медведей. Обычная доза для иммобилизации составляет 10 г/кг массы тела [11].

По некоторым данным, аэрозоль с добавками карфентанила мог применяться при освобождении заложников из числа зрителей мюзикла «Норд-Ост» в Театральном центре на Дубровке в Москве в 2002 г., с целью уменьшения вероятности подрыва террористами взрывных устройств. В ходе данной операции погибло 130 человек [12].

Низкие концентрации производных фентанила в биологических жидкостях и недостаточность данных о метаболизме затрудняют их обнаружение при химико-токсикологических исследованиях.

Целью данной работы является разработка способа определения производных фентанила в моче методами

газовой и жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС и ЖХ-МС/МС). Пробоподготовка включала стадии жидкостной и твердофазной экстракции, а также извлечение ацетонитрилом. Приведены спектры 3-метилфентанила, карфентанила и их дезметилированных метаболитов.

**Материалы и методы исследования. ГХ-МС.** Для обнаружения и идентификации производных фентанилов использовали газовый хроматограф 6890В, соединенный с моноквадрольным масс-спектрометром 5977 (Agilent Technologies, США). Разделение выполняли с помощью капиллярной колонки HP-5ms (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм). Начальная температура колонки 70°C с выдержкой 0.5 мин, подъем температуры до 150°C со скоростью 27°C/мин, подъем температуры до 290°C со скоростью 12°C/мин с выдержкой при конечной температуре 15 мин; температуры испарителя и интерфейса связи с масс-спектрометром 260°C и 290°C, соответственно; скорость потока газа-носителя (гелий) 1 мл/мин; объем вводимой пробы 1 мкл (в режиме без деления потока). Масс-спектрометр использовали в условиях электронной ионизации (EI, 70 эВ) при регистрации полного ионного тока (TIC, 40–550 m/z) и выбранных ионов (SIM). Для определения 3-метилфентанила выбирали ионы, m/z 259, 105, 160, 203; для карфентанила – ионы, m/z 105, 187, 303, 304. Все перечисленные ионы являются фрагментными. Молекулярные ионы

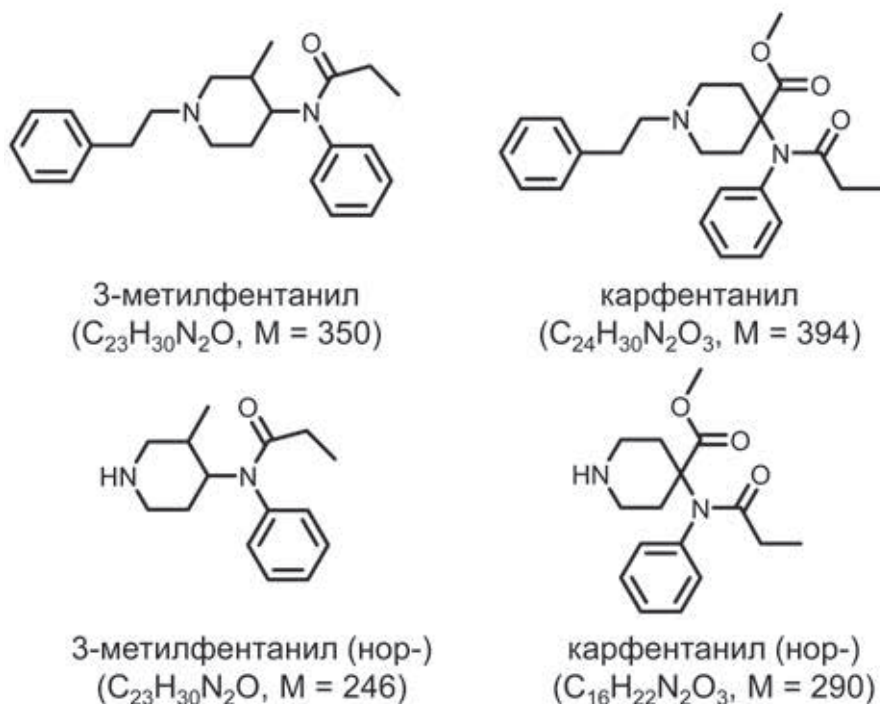


Рис. 1. Структурные формулы, брутто-формулы и молекулярные массы производных фентанила и их дезалкилированных метаболитов

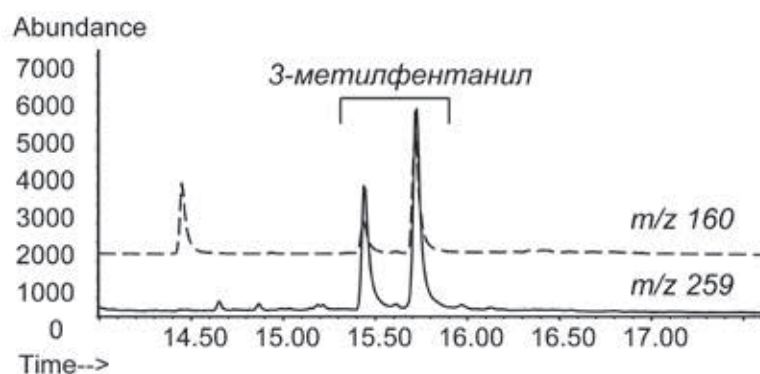


Рис. 2. Масс-хроматограммы образца мочи, содержащей 3-метилфентанил (ГХ-МС, EI, SIM)

в спектрах (EI) обоих соединений чрезвычайно малоинтенсивны и поэтому не были включены в списки SIM.

Для обработки результатов применяли систему обработки хроматомасс-спектральной информации AMDIS и подтверждали идентификацию компонентов с помощью библиотеки масс-спектров NIST11. Ввиду простоты идентификации, меньшей стоимости и трудоемкости метод ГХ-МС применяли для первичного скрининга образцов мочи.

**ЖХ-МС/МС.** В данной работе применяли модульный жидкостный хроматограф Nexera XR с tandemным масс-спектрометром LCMS-8040 (Shimadzu). Вводимые смеси (5 мкл) разделяли с помощью колонки Shim-pack FC-ODS (2 мм × 150 мм, 3 мкм), термостатированной при 40°C. Элюирование компонентов смесей проводили бинарным элюентом, состоящим из фаз А (0.3% об. муравьиной кислоты в воде)

и В (ацетонитрил) согласно следующей программе: 1% фазы В (2 мин); линейный градиент до 100% В (14 мин); сохранение состава (2 мин). Скорость подвижной фазы была 0.5 мл/мин, объем вводимой пробы 5 мкл. Масс-спектрометр конфигурировали для работы в режиме электрораспылительной ионизации (ESI) в следующих условиях: скорости потоков газа-распылителя и осушающего газа (азот) 1.5 и 10 л/мин, соответственно; температуры линии десольватации и нагревательного блока 250°C и 300°C, соответственно; напряжение на интерфейсе 4.5 кВ, давление газа для ячейки соударений (аргон) 230 кПа. В качестве аналитического отклика применяли площади пиков, измеряемые при регистрации спектров ионов-продуктов с энергией соударений 22 эВ. Метод ЖХ-МС/МС использовали для подтверждения результатов, полученных методом ГХ-МС, а также для анализа образцов, оказавшихся отрицательными при первичном скрининге методом ГХ-МС.

**Реактивы.** Ацетонитрил (для градиентной ВЭЖХ) был поставлен J.T.Baker (Нидерланды). Формиат аммония и муравьиную кислоту (для анализа) получали в Sigma-Aldrich (Стейн-

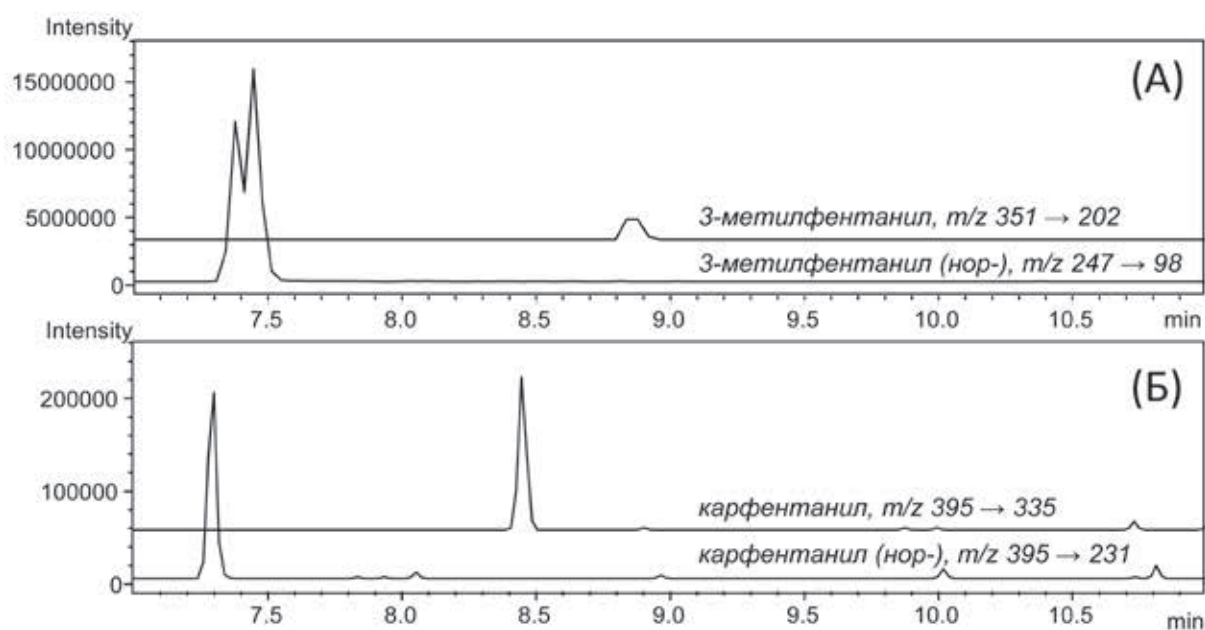


Рис. 3. Масс-хроматограммы образцов мочи, содержащих 3-метилфентанил (А) и карфентанил (В) (ЖХ-МС/МС, ESI)

хем, Германия). Остальные растворители и реактивы получали в Экос-1 (Москва, Россия). Полоски для иммунохроматографического обнаружения наркотических средств и их метаболитов в моче (ИХА-7-Мульти-Фактор) покупали в ООО Фактор-Мед (Москва, Россия).

**Образцы мочи.** 32 образца мочи, в которых после проведения всех аналитических процедур были обнаружены производные фентанила, были собраны у лиц, доставленных в центральные районные больницы с диагнозом «Отравление наркотическими средствами? Наркотическое опьянение?» При проведении иммунохроматографического анализа мочи не выявили присутствия тетрагидроканнабинола, бензодиазепинов, морфина, кокаина, амфетаминов, метадона, метамфетамина, а также их метаболитов.

**Подготовка проб мочи.** Подготовку проб выполняли тремя способами.

**Жидко-жидкостная экстракция (ЖЖЭ).** Образец мочи (4.5 мл) помещали в пробирку, содержащую натрия хлорид (2 г), добавляли на кончике шпателя карбонат натрия до pH 9-10 и экстрагировали смесью дихлорметан – дихлорэтан – изопропанол – гептан (2:2:2:1). После центрифугирования смеси в течение 5 минут при 3000 об/мин верхний органический слой отделяли и упаривали в выпарном колпачке. Сухой остаток растворяли в этилацетате (100 мкл) и вводили в газовый хроматограф последовательно в режимах регистрации TIC и SIM. После окончания анализа растворитель упаривали досуха в потоке воздуха, сухой оста-

ток растворяли в фазе А (100 мкл) и вводили в жидкостной хроматограф.

**Твердо-фазная экстракция (ТФЭ).** Патрон промывали метанолом (3 мл) и кондиционировали фосфатным буфером (3 мл, 0.1М, pH 6.5). Загрузку анализируемых образцов (3 мл) выполняли со скоростью 0.5 мл/мин. Затем промывали сорбент ацетатным буфером (3 мл, pH 4.6, 0.1М) и метанолом (3 мл). Элюирование проводили смесью дихлорметан – пропанол-2 – раствор аммиака, 25%, (4:1:0.1) дважды порциями по 3 мл. Элюат испаряли потоком воздуха при 40 °С. Сухой остаток обрабатывали также, как для варианта жидко-жидкостной экстракции.

**Извлечение аналитов ацетонитрилом.** К образцу мочи (400 мкл) добавляли ацетонитрил (1200 мкл), тщательно перемешивали и помещали в холодильник (-20°С, 20 мин). Затем доводили смесь до комнатной температуры, отбирали 400 мкл водно-ацетонитрильной фазы (верхний слой) и упаривали при температуре 45°С в потоке воздуха. Сухой остаток растворяли в 100 мкл жидкостно-хроматографической фазы А и вводили в жидкостной хроматограф.

**Результаты и обсуждение.** При использовании метода ГХ-МС и регистрации хроматограмм в режиме TIC производные фентанила не выявили ни в одном из образцов мочи, хотя в 23 образцах обнаружили димедрол и его метаболит (дифенилметанол). При регистрации хроматограмм в режиме SIM в 5 образцах обнаружили 3-метилфентанил (рис. 2), элюируемый в виде двух пиков, соответствующих диа-

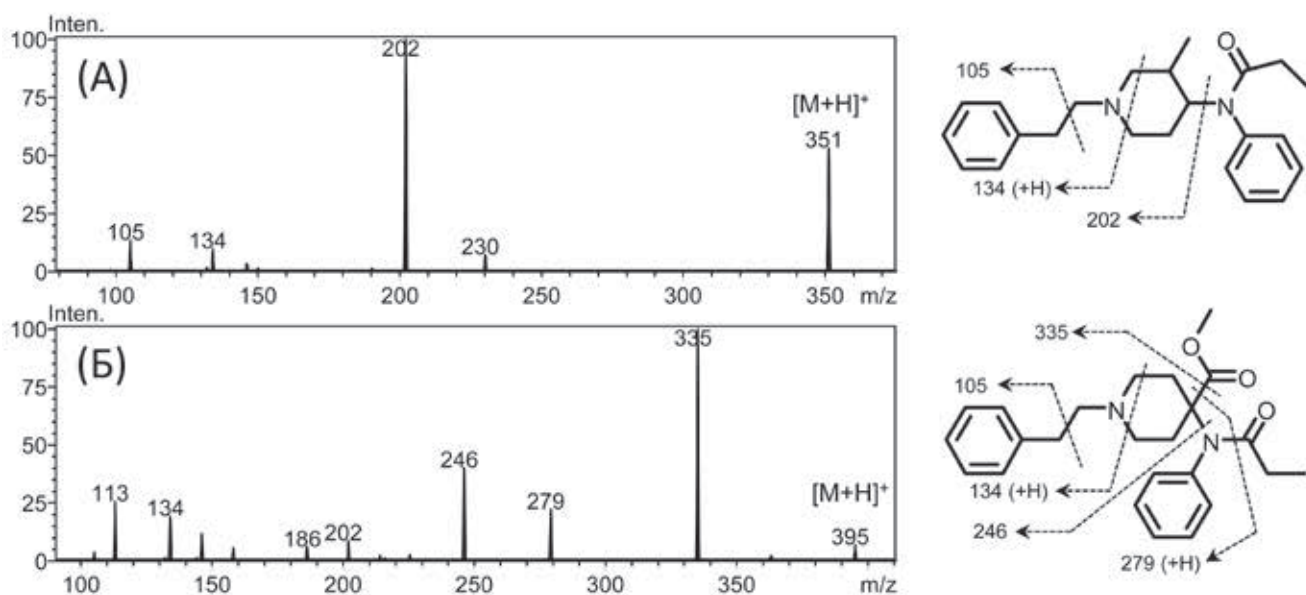
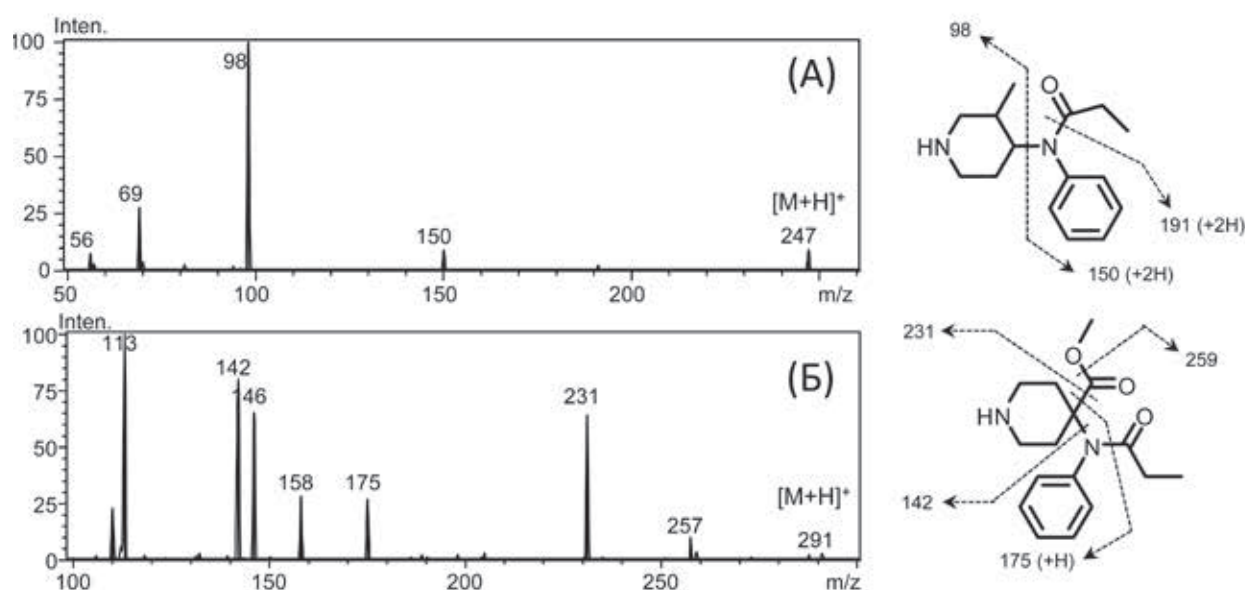


Рис. 4. Масс-спектры ионов-продуктов 3-метилфентанила (А) и карфентанила (В) и схема фрагментации (ЖХ-МС/МС, ESI)



**Рис. 5.** Масс-спектры ионов-продуктов де-метилированных метаболитов 3-метилфентанила (А) и карфентанила (В) и схема фрагментации (ЖХ-МС/МС, ESI). Для 3-метилфентанила приведен спектр изомера с большим временем удерживания МС, ESI)

стереомерам. Методом ГХ-МС карфентанил не выявили ни в одном из образцов. Оба варианта пробоподготовки (ЖЖЭ и ТФЭ), используемые для последующего анализа ГХ-МС, были найдены пригодными для обнаружения 3-метилфентанила по признаку создания достаточной концентрации аналитов. Однако, высокое содержание матричных соединений в экстрактах, получаемых ЖЖЭ, затрудняло обнаружение. Применение ТФЭ позволяло получать достаточно чистые экстракты при значительной степени концентрирования целевых аналитов и, следовательно, повышать достоверность их обнаружения.

#### ЖХ-МС/МС

Хроматограммы (ЖХ-МС/МС, ESI) образцов мочи, содержащих 3-метилфентанил и карфентанил, приведены на рис. 3а и 3б, соответственно. В данных условиях диастереомеры неизменного 3-метилфентанила соэлюируются, хотя диастереомеры его дезалкилированного метаболита (нор-) разделены. Разделение диастереомеров 3-метилфентанила возможно также при увеличении времени ЖХ градиента. Все образцы мочи, в которых был обнаружен димедрол, содержали также 3-метилфентанил. Это наблюдение указывает на высокую вероятность того, что димедрол является основой для изготовления препаратов, содержащих 3-метилфентанил, а присутствие димедрола и его метаболитов в моче может быть причиной для поиска производных фентанила.

Методы ЖЖЭ и ТФЭ одинаково пригодны для подготовки проб, хотя последний следует

считать более предпочтительным при проведении целевого анализа на присутствие производных фентанила по причине увеличения срока службы колонки за счет получения более чистых экстрактов. Применение извлечения ацетонитрилом не позволяло получать концентрацию аналитов, необходимую для их достоверного обнаружения.

Спектры ионов-продуктов производных фентанила изображены на рисунках 4а и 4б. Фрагментация 3-метилфентанила сводится к элиминированию N-фенилпропиоамидного остатка и последующему распаду остальной части структуры. Для карфентанила характерно элиминирование N-фенилпропиоамидного и метилкарбоксилатного остатков, а также дезпропионилирование. Ионы, m/z 105 и 134, одинаковы для обоих соединений.

Кроме неизменных соединений, в моче обнаружили дезалкилированные метаболиты производных фентанила, спектры ионов-продуктов которых приведены на рисунках 5а и 6а. Фрагментация 3-метилфентанила (нор-) проходит в основном, через разрыв связи между метилпиперидиновым остатком и атомом азота, причем заряд может оставаться на любом из фрагментов. При фрагментации карфентанила (нор-) происходит полное или частичное элиминирование заместителей в положении 4 пиперидинового кольца.

Ввиду отсутствия стандартных образцов, достоверность идентификации всех обнаруженных соединений проверяли двумя ЖХ-МС/МС методами. Для измерения точных масс ис-

пользовали тандемный масс-спектрометр типа квадруполь-орбитальная ионная ловушка (QEactive, Thermo Scientific); для регистрации спектров МС1-МС3 применяли спектрометр типа ионная ловушка (AmaZon Speed, Bruker Daltonics) и масс-спектральные библиотеки.

**Заключение.** Проведенные исследования позволяют сделать вывод о том, что для обнаружения производных и метаболитов фентанила в моче при проведении химико-токсикологического исследования целесообразно применять жидкостно-жидкостную или твердофазную экстракцию с последующим анализом образцов методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Данная схема позволяет получать необходимую селективность и низкие пределы обнаружения, достигаемые в автоматическом

информационно-зависимом режиме. Определение производных фентанила методом ГХ-МС возможно только в режиме SIM при достаточной концентрации токсикантов.

Полученные результаты позволили существенно повысить информативность скринингового метода диагностики фактов незаконного употребления производных фентанила при судебно-химических исследованиях и химико-токсикологическом подтверждении клинических диагнозов острых отравлений наркотиками, а также дополнить поисковую библиотеку для автоматизированного определения новых “дизайнерских наркотиков”.

Благодарность. Авторы выражают благодарность д.х.н. Е.И. Савельевой и к.б.н. Г.В. Каракашеву за помощь в подготовке публикации.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

1. Kennedy S. K. et al. The Pharmacological Basics of Therapeutics. – 1990, p. 5
2. Meyer M. R., Maurer H. H. Absorption, distribution, metabolism and excretion pharmacogenomics of drugs of abuse // Pharmacogenomics. – 2011. – Т. 12. – №. 2. – С. 215-233.
3. Gardocki J. F., Yelnosky J. A study of some of the pharmacologic actions of fentanyl citrate // Toxicology and applied pharmacology. – 1964. – Т. 6. – №. 1. – С. 48-62.
4. Stanley T. H., Webster L. R. Anesthetic requirements and cardiovascular effects of fentanyl-oxygen and fentanyl-diazepam-oxygen anesthesia in man // Anesthesia & Analgesia. – 1978. – Т. 57. – №. 4. – С. 411-416.
5. Janssen PAJ, Eddy NB. Compounds related to pethidine-IV new general chemical methods of increasing the analgesic activity of pethidine. J Medicinal Pharma Chem 1960;2:31-45
6. Henderson GL. Designer Drugs: Past History and Future Prospects // Journal of Forensic Science – 1988. – Т. 33(2). – С. 569–575
7. Sorokin V. I., Semkin E. P., Savilov A. P. Expert examination of 3-methylfentanyl // Microgram. – 1994. – Т. 27. – С. 221.
8. Ojanperä I. et al. An epidemic of fatal 3-methylfentanyl poisoning in Estonia // International journal of legal medicine. – 2008. – Т. 122. – №. 5. – С. 395-4
9. EMCDA. Drugnet Europe 85 (2014). [http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/785/Drugnet\\_85\\_weboptimised\\_461952.pdf](http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/785/Drugnet_85_weboptimised_461952.pdf). (Accessed 16 March 2016)
10. Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации [утв. постановлением Правительства РФ от 1998 г. N 681]/ Perechen' narkoticheskikh sredstv, psihotronnykh veshchestv i ih prekursorov, podlezhashchih kontrolyu v Rossijskoj Federacii [utv. postanovleniem Pravitel'stva RF ot 1998 g. N 681]
11. Wax P. M., Becker C. E., Curry S. C. Unexpected “gas” casualties in Moscow: a medical toxicology perspective // Annals of emergency medicine. – 2003. – Т. 41. – №. 5. – С. 700-705.
12. Riches J. R. et al. Analysis of clothing and urine from Moscow theatre siege casualties reveals carfentanyl and remifentanyl use // Journal of analytical toxicology. – 2012. – Т. 36. – №. 9. – С. 647-656.

O.L. Zaikina<sup>1</sup>, V.V. Shilov<sup>2</sup>, A.N. Lodyagin<sup>3</sup>, A.M. Grigor'ev<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Leningrad Regional Drug Dispensary, chemical-toxicological laboratory, 188661, Vsevolozhskii District, Leningrad Region, Russian Federation

<sup>2</sup>I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, 195015, St.Petersburg Russian Federation

<sup>3</sup>I.I. Dzhanelidze St.Petersburg Research Institute of Emergency Care, 192242, St.Petersburg, Russian Federation

<sup>4</sup>Bureau of Forensic-Medical Expert Examination, Forensic-Chemical Division. 129110 Moscow, Russian Federation

## SPECIFICITIES OF DETECTION OF FENTANYL DERIVATES IN URINE USING METHODS OF LIQUID AND GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

Recently in the Leningrad region, cases of poisoning associated with taking fentanyl derivatives (Carfentanyl, 3-Methylfentanyl) became more frequent. Analytical information about taking those compounds by persons brought to central district hospitals with symptoms of drug intoxication gives rise to certain methodological difficulties that are caused by low concentrations of toxic substances in blood and urine and limited metabolism data.

Using methods of liquid and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS and LC-MS / MS), urinary metabolites of fentanyl derivatives were identified. Methods for samples preparation based on liquid-liquid or solid-phase extraction are suggested. It is recommended to use LC-MS/MS methods to detect metabolites and unmodified forms of fentanyl derivatives in blood and urine of patients under examination. Results of the practical application of developed methods are reported.

**Key words:** poisoning, derivatives of fentanyl, 3-Methylfentanyl, Carfentanyl, «designer drugs».

Материал поступил в редакцию 17.05.2016 г.

## ИЗ ПРАКТИКИ

УДК 615.916!1

**ОСТРОЕ  
ПЕРОРАЛЬНОЕ  
ОТРАВЛЕНИЕ  
ХЛОРИДОМ НАТРИЯ  
(КЛИНИЧЕСКОЕ  
НАБЛЮДЕНИЕ)**

*В.В. Шилов<sup>1</sup>, А.Н. Лодягин<sup>2</sup>, В.А. Лукин<sup>2</sup>, Л.П. Пивоварова<sup>2</sup>,  
А.Ю. Андрианов<sup>2</sup>, Б.В. Батоцыренов<sup>2</sup>, М.М. Ермолаева<sup>2</sup>,  
О.А. Кузнецов<sup>2</sup>, С.И. Глушков<sup>2</sup>, С.А. Повзун<sup>2</sup>, О.Э. Заев<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», 195015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация.

<sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**В** статье приводится описание клинического наблюдения пациента, поступившего в Центр лечения острых отравлений НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе с острым пероральным отравлением хлоридом натрия (поваренной солью) крайне тяжелой степени. Приведены результаты клинических, лабораторных, инструментальных и патологоанатомических исследований.

**Ключевые слова:** поваренная соль, хлорид натрия, острое отравление, пероральное употребление

Известный пищевой продукт, имеющий торговое название «поваренная соль», на 97% состоит из неорганического соединения хлорида натрия и является основным источником поступления в организм человека ионов натрия и хлора. Остальные 3% – это различные добавки в виде йодидов, фторидов и карбонатов, которыми продукт обогащают для профилактики различных заболеваний (щитовидной железы, зубов и др.). Биологическое значение ионов натрия и хлора связано с их обеспечением передачи возбуждения в области окончаний эфферентных и двигательных нервов, участием в регуляции кислотно-основного состояния и осмотического давления плазмы и клеток крови [1]. Суточная физиологи-

ческая потребность в поваренной соли для здоровых взрослых людей составляет от 3 до 10 грамм (от 0,003 до 0,01 кг) в зависимости от климатических, национальных и др. условий. Летальная доза хлорида натрия для человека составляет 1,5 г/ кг массы тела [2]. Для сравнения: летальными дозами поваренной соли для крупного рогатого скота являются дозы от 3 до 6 г/кг, а для свиней – те же 1,5 г/кг массы тела [3].

Острые отравления хлоридом натрия (поваренной солью) встречаются крайне редко. Как правило, такие отравления возникали случайно и, преимущественно, у детей в результате приема концентрированных растворов хлорида натрия в качестве рвотного средства, а так же в бы-

**Шилов Виктор Васильевич (Shilov Victor Vasilevich)**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой токсикологии, экстремальной и водолазной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 191015, г. Санкт-Петербург, vshilov@inbox.ru

**Лодягин Алексей Николаевич (Lodyagin Aleksey Nikolaevich)**, доктор медицинских наук, руководитель отдела клинической токсикологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, alodyagin@mail.ru

**Лукин Вадим Анатольевич (Lukin Vadim Anatolevich)**, кандидат медицинских наук, заведующий отделением токсикологии №2 «ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Vadim.Lukin@mail.ru

**Пивоварова Людмила Павловна (Pivovarova Ludmila Pavlovna)**, доктор медицинских наук, руководитель отдела лабораторной диагностики ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, immunemergency@yandex.ru

**Андрианов Андрей Юрьевич (Andrianov Andrey Yurevich)**, заведующий отделением острых отравлений №1 ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, 192242, г. Санкт-Петербург», andrianov.and@mail.ru

**Батоцыренов Баир Васильевич (Batotsyrenov Bair Vasilevich)**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, bbair@mail.ru

**Ермолаева Мария Михайловна (Ermolaeva Mariya Mikhaylovna)**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела клинической морфологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, 192242, г. Санкт-Петербург», mermolaeva@mail.ru

**Кузнецов Олег Анатольевич (Kuznetsov Oleg Anatolevich)**, кандидат медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, 192242, г. Санкт-Петербург», Kuznetsov\_dr@inbox.ru

**Глушков Сергей Иванович (Glushkov Sergey Ivanovich)**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела клинической токсикологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, 192242, г. Санкт-Петербург»

**Повзун Сергей Андреевич (Povzun Sergey Andreevich)**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела клинической морфологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, 192242, г. Санкт-Петербург»

**Заев Олег Эдуардович (Zaev Oleg Eduardovich)**, врач анестезиолог – реаниматолог ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, dzol@mail.ru

ту у взрослых лиц с нарушенной психикой [4–10].

Исследования показали, что избыточное пероральное поступление хлорида натрия усиливает в желудке выделение пепсина и соляной кислоты и приводит к развитию геморрагического гастроэнтерита. Всасывание в кровь хлорида натрия вызывает нарушение водно-солевого обмена, повышение осмотического напряжения крови и межтканевой жидкости и, в итоге, – дегидратацию тканей всех тканей и органов. Избыток ионов натрия вытесняет из нервных клеток ионы кальция с последующими расстройствами центральной нервной системы, приводит к нарушению кислородтранспортной функции крови и развитию гипоксемии [11].

Приводим собственное наблюдение:

Пациент О., 25 лет, по профессии инженер, с суицидной целью перорально принял 1,5 кг поваренной соли грубого помола. Процесс перорального употребления пищевой поваренной соли больным О. в таком количестве происходил незаметно для окружающих. Из анамнеза жизни известно, что пациент О. не имел каких-либо сопутствующих соматических заболеваний. Учитывая антропометрические данные пациента О. (вес 52 кг, рост 174 см), он принял дозу в 20 раз превышающую летальную.

Объективно: на момент поступления состояние больного крайне тяжелое. Кожный покров бледный, акроцианоз. Сознание на уровне комы II степени (6 баллов по шкале Глазго). Зрачки S = D, средней величины с ослабленной реакцией на свет. Нистагма нет. Корнеальные рефлексы сохранены. ЧСС – 95 ударов в минуту, пульс слабого наполнения и напряжение. АД – 80/40 мм. рт.

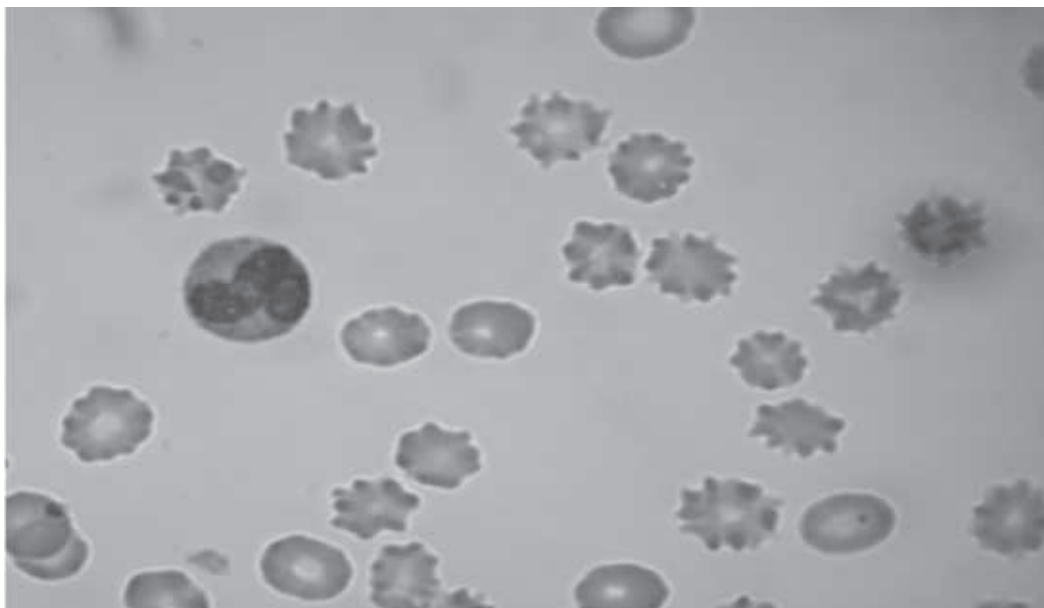
ст. Частота дыхания 12 раз в минуту. Хрипов нет. Живот обычной формы, не вздут, мягкий, без реакции на пальпацию. Печень не увеличена.

По данным лабораторных исследований: гипернатриемия 205 ммоль/л (норма 135 – 145 ммоль/л), лейкопения до  $1,9 \times 10^9/\text{л}$  (норма  $4 - 6 \times 10^9/\text{л}$ ), тромбоцитопения ( $6 \times 10^9/\text{л}$ ) (норма  $200 - 400 \times 10^9/\text{л}$ ), гипокалиемия (2,3 ммоль/л) (норма 3,5 – 5,1 ммоль/л), гипергликемия (21 ммоль/л) (норма 3,5 – 5,5 ммоль/л), гемоглобинемия 45 г/л (норма 130 – 180 г/л) и метаболический ацидоз (рН 6,4; ВЕ -15 мэкв/л) (норма рН 7,35 – 7,45; ВЕ -2,3 – + 2,3 мэкв/л).

Потеря жидкости привела к изменению клеточного скелета эритроцитов. На рисунке 1 представлены попавшие в поле зрения микроскопа при полуторотысячном увеличении так называемые эхиноциты (шиповидные эритроциты) – клетки, напоминающие по форме «морского ежа». Эти клетки имеют от 30 до 50 шипов (спикул) одинакового размера, располагающихся равномерно по поверхности эритроцита. Часть нейтрофильных гранулоцитов представлена микродегенеративными клетками с пикнотичными ядрами.

Сладжирование эхиноцитов между собой привело к появлению многоклеточных конгломератов (рис. 2). Вследствие такой деформации и агрегации эритроцитов ухудшились реологические свойства крови, что привело к расстройствам микроциркуляции, в результате чего развивалась вторичная тканевая гипоксия и функциональная недостаточность жизненно важных органов.

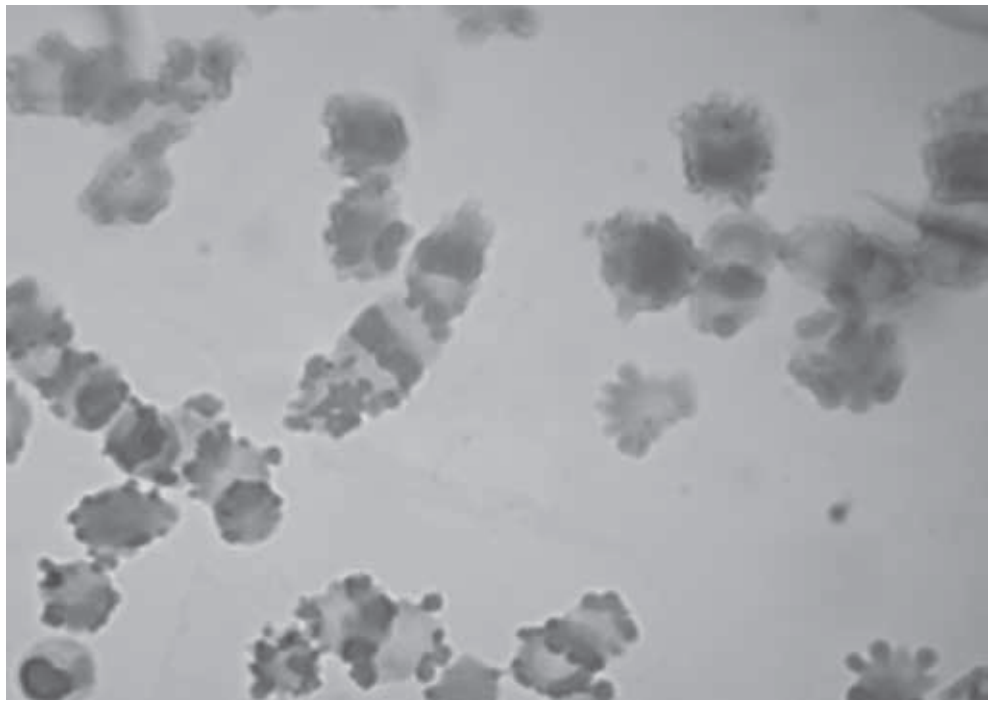
При гистологическом исследовании внутренних органов и тканей в их сосудах выявить эхиноциты не представилось возможным.



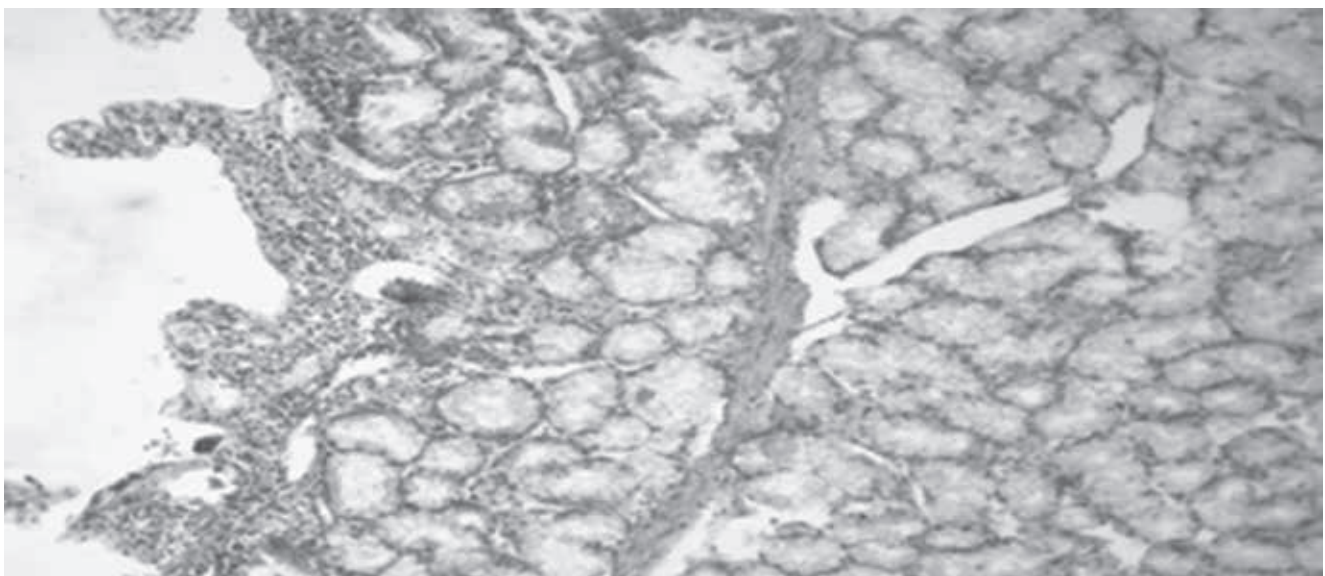
**Рис. 1.** Пациент О., 25 лет. Острое пероральное отравление поваренной солью крайне тяжелой степени. Мазок крови. Окраска: азур-эозин по Романовскому, увеличение  $\times 1500$ .

Пациент получал комплексное лечение. ИВЛ в режиме СМV проводили в течение всего времени пребывания больного в реанимационном отделении. Выбор инфузионных растворов для внутривенного введения был ограничен повышением уровня натрия в плазме крови. Так как уровень натрия в сыворотке крови составлял 205 ммоль/л, то введение солевых растворов было противопоказано. Регидратационную терапию начинали с введения кристаллоидных и коллоидных растворов: 5 % раствора глюкозы в объеме 1,5 л в течение 1-го часа, по 1 л в течение 2-го и 3-го часа, 0,5 л – в последующие часы и стабизола в дозе 0,5 литра (1-й час 0,3 л и по 0,15 л в последующие часы). Нам удалось добиться умеренного снижения уровня натрия через 4 часа от начала регидратационной терапии (до 185 ммоль/л) и нормализации уровня глюкозы крови за счет почасового внутривенного введения инсулина в дозе 6 ЕД. Учитывая высокий риск применения инсулина при гиперосмолярной коме, его введение осуществлялось в минимальных

дозах. Снижение уровня калия требовало его незамедлительной корректировки, что было достигнуто внутривенным капельным введением хлорида калия в дозе 3 грамм в час. Через 3 часа его уровень составил 4,4 ммоль/л. Несмотря на нормализацию ряда приведенных лабораторных показателей, состояние больного оставалось крайне тяжелым, без положительной динамики. Через 9 часов с момента госпитализации у пациента О. развилась фибрилляция желудочков. Реанимационные мероприятия в течение 30 минут



**Рис. 2.** Пациент О., 25 лет. Острое отравление поваренной солью крайне тяжелой степени. Мазок крови. Окраска: азур-эозин по Романовскому, увеличение x 1500.



**Рис. 3.** Пациент О., 25 лет. Острое отравление поваренной солью крайне тяжелой степени. Стенка желудка. Окраска: гематоксилин-эозин, увеличение x 400.

не привели к положительному результату. Была констатирована смерть больного.

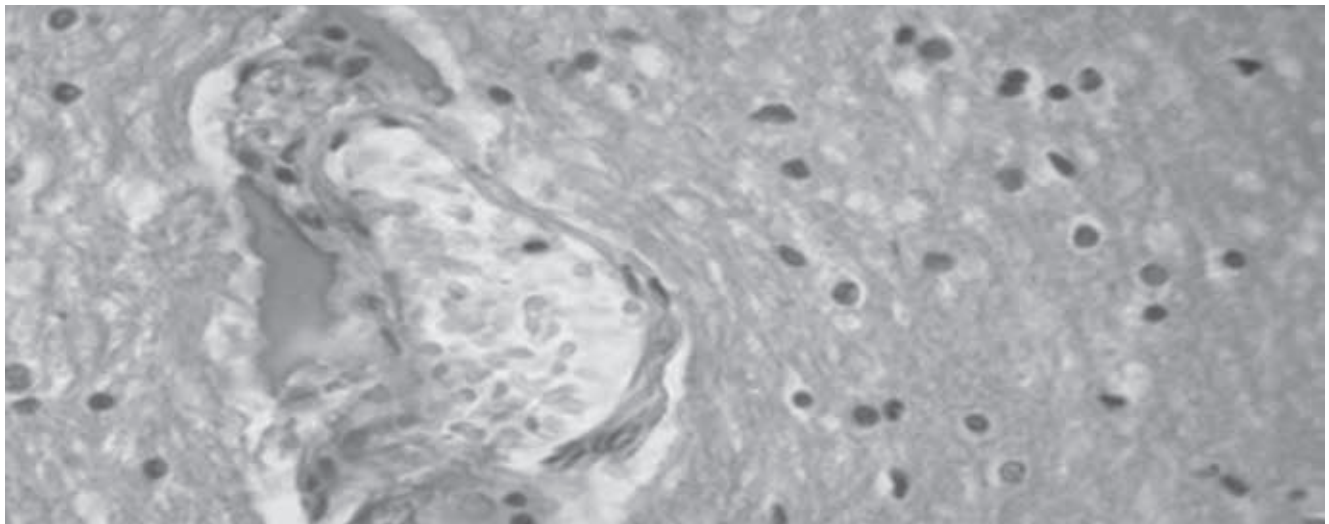
При патологоанатомическом исследовании органов брюшной полости выявлено наличие катарально-геморрагического эзофагита и катарально-геморрагического гастрита с некрозом. При гистологическом исследовании внутренних органов основные морфологические изменения наблюдались в слизистой оболочке желудка в виде выраженных дистрофических и некротических процессов, что, по всей видимости, было связано с непосредственным прямым повреждающим действием поваренной соли в месте ее резорбции (рис. 3).

Слизистая оболочка желудка на большом протяжении была некротизирована с обнажением

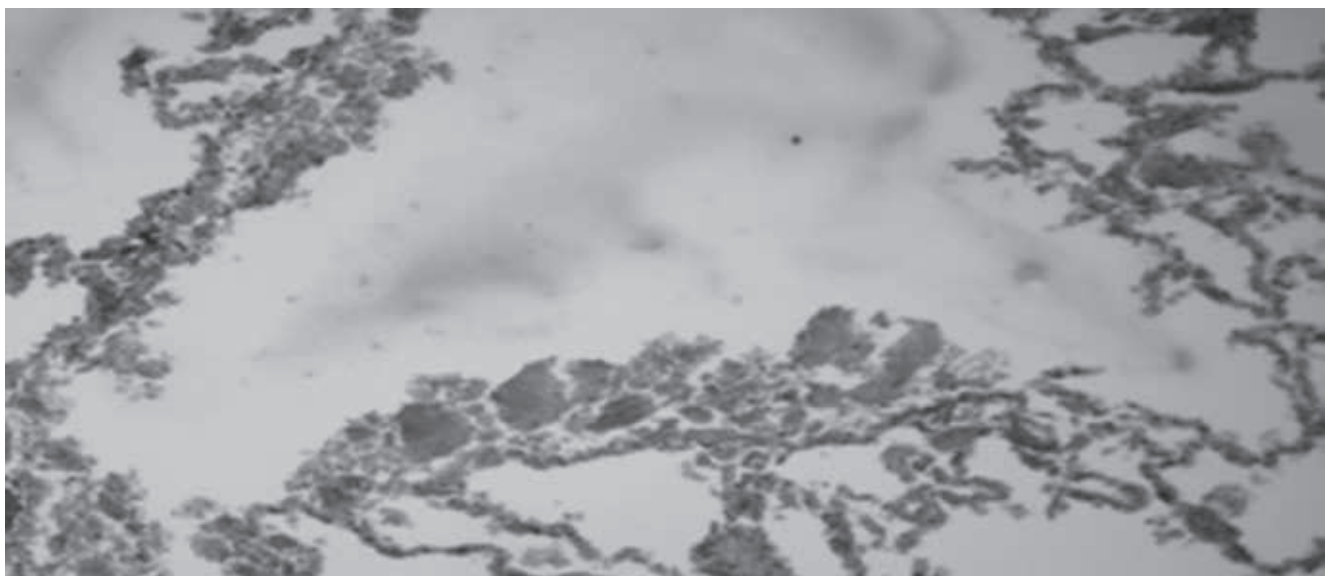
собственной пластинки, и образованием множественных поверхностных эрозий и выраженной очаговой инфильтрацией стромы нейтрофильными лейкоцитами. Железы подслизистого слоя находились в состоянии гиперсекреции. В сохранившихся участках слизистой оболочки отмечалось резкое полнокровие с образованием мелких кровоизлияний, а в покровных клетках наблюдались явления вакуольной и зернистой дистрофии.

Нарушение водно-электролитного баланса привело к выраженным неспецифическим изменениям во внутренних органах, заключающихся преимущественно в гемоциркуляторных изменениях (рис. 4).

Так, в сосудах головного мозга отмечалось резко выраженное набухание эндотелиоцитов нару-



**Рис. 4.** Пациент О., 25 лет. Острое отравление поваренной солью крайне тяжелой степени. Головной мозг. Окраска: гематоксилин-эозин, увеличение x 400.



**Рис. 5.** Пациент О., 25 лет. Острое отравление поваренной солью крайне тяжелой степени. Легкое. Окраска: гематоксилин-эозин, увеличение x 200.

шение целостности эндотелиальной выстилки, разрыхление и набухание базальной мембраны, которое сочеталось с выраженным периваскулярным отеком, а в отдельных участках и с экстравазацией небольшого количества эритроцитов в периваскулярное пространство. В ткани головного мозга также отмечался выраженный перичеселлюлярный отек и дистрофические изменения нейронов.

При морфологическом исследовании легких обращало на себя внимание резкое полнокровие межальвеолярных перегородок, сочетающееся с выходом большого количества эритроцитов в просвет альвеол (рис. 5).

Кроме того, нарушение аэрогематического барьера заключалось и в чередование участков диспнектазов и участков выраженной эмфиземы с разрывами межальвеолярных перегородок.

**Заключение.** Приведенный клинический наблюдение демонстрирует терминальную стадию острого отравления хлоридом натрия (поваренной солью) в дозе в 20 раз превышающей

летальную. При остром отравлении произошли выраженные нарушения кислотно-основного состояния, электролитного состава крови, изменения реологических свойств крови. Купирование явлений гиповолемического шока на фоне гиперосмолярной комы оказалось крайне сложным. К сожалению, комплекс проведенных интенсивных детоксикационных мероприятий оказался неэффективным.

Непосредственной причиной смерти пациента О. явилось нарушение работы сердца на фоне метаболических нарушений. Лабораторная диагностика на клеточном уровне позволила выявить целый спектр нарушений, характерных для гиперосмолярной комы. Наибольшие морфологические нарушения наблюдались в желудочно-кишечном тракте.

Неэффективность лечебных мероприятий в приведенном клиническом наблюдении подвигает к совершенствованию современных методов детоксикационной терапии при сверхвысоких дозах воздействия токсикантов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Орлов Р.С. Нормальная физиология: учебник. – 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
2. Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления: Пер. с нем. – М.: Медицина, 1983.
3. Жуленко В.Н., Рабинович М.И., Таланов Г.А. Ветеринарная токсикология, 2011. <http://med-book.info/Veterinaria-727/dezoksiniivalenol/html>
4. Finberg L., Kiley J., Luttrell N. Mass accidental salt poisoning in infancy. JAMA. 1963; (184):184-190.
5. Calvin M.E., Knepper R., Robertson W.O. Hazards to health: Salt poisoning. N Engl. J. Med. 1964; (270): 625-626.
6. Barer J., Hill L., Hill R., et al. Fatal poisoning from salt used as emetic. Am J Dis Child. 1973; (125):889-890.
7. Roberts C.J.C., Noakes M.J. Fatal outcome from administration of a salt emetic. Postgrad Med J. 1974; (50):513-515.
8. Elton N.W., Elton W.J., Nazareno J.P. Pathology of acute salt poisoning in infants. Am J. Clin. Pathol. 1963; (39):252-264.
9. Bird A. Danger of saline emetics in first aid for poisoning. Br Med J. 1974; (4):103.
10. Johnston J. G., Robertson W. O. Fatal ingestion of table salt by an adult. West J. Med. 1977; 126(2): 141-143.
11. Литвицкий П.Ф. Патофизиология: учебник. – 4-е изд. – М.: ГЭОТАР – Медиа., 2008.

## REFERENCES:

1. Orlov R.S. Normal physiology: uchebnyk. – 2-e izd. – M.: GEOTAR-Media, 2010 (in Russian).
2. Ludevig R., Los K. Acute poisoning Per. s nem. – M.: Meditsina; 1983 (in Russian).
3. Zhulenko V.N., Rabinovich M.I., Talanov G.A. Veterinary Toxicology. – 20 Available at: <http://med-book.info/Veterinaria-727/dezoksiniivalenol/html> (in Russian).
4. Finberg L., Kiley J., Luttrell N. Mass accidental salt poisoning in infancy. JAMA. 1963; (184):184-190.
5. Calvin M.E., Knepper R., Robertson W.O. Hazards to health: Salt poisoning. N Engl. J. Med. 1964; (270): 625-626.
6. Barer J., Hill L., Hill R., et al. Fatal poisoning from salt used as emetic. Am. J. Dis. Child. 1973; (125):889-890.
7. Roberts C.J.C., Noakes M.J. Fatal outcome from administration of a salt emetic. Postgrad Med J. 1974; (50):513-515.
8. Elton N.W., Elton W.J., Nazareno J.P. Pathology of acute salt poisoning in infants. Am J. Clin. Pathol. 1963; (39):252-264.
9. Bird A. Danger of saline emetics in first aid for poisoning. Br. Med J. 1974; (4):103.
10. Johnston J. G., Robertson W. O. Fatal ingestion of table salt by an adult. West J. Med. 1977; 126(2): 141-143.
11. Litvitskiy P.F. Pathophysiology: textbook – 4-e izd. – M.: GEOTAR – Media., 2008 (in Russian).

V.V. Shilov<sup>1</sup>, A.N. Lodyagin<sup>2</sup>, V.A. Lukin<sup>2</sup>, L.P. Pivovarova<sup>2</sup>, A.Y. Andrianov<sup>2</sup>, B.V. Batotsyrenov<sup>2</sup>, M.M. Ermolaeva<sup>2</sup>, O.A. Kuznetsov<sup>2</sup>, S.I. Glushkov<sup>2</sup>, S.A. Povzun<sup>2</sup>, O.E. Zaev<sup>2</sup>

## ACUTE ORAL POISONING WITH SODIUM CHLORIDE (CLINICAL OBSERVATION)

<sup>1</sup> I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, 195015, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> I.I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Care, 192242, St. Petersburg, Russian Federation

The article describes a clinical observation of a patient brought to the Center for treatment of acute poisonings at I.I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Care with severe acute oral poisoning by sodium chloride. The results of clinical, laboratory, instrumental and postmortem studies are reported.

**Keywords:** sodium chloride, acute poisoning, peroral uptake

Материал поступил в редакцию 24.05.2016 г.

# ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 595.324.2:632.95+504.054:632.95

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ИМИДАКЛОПРИДСОДЕРЖАЩИХ ИНСЕКТИЦИДОВ НА *DAPHNIA MAGNA*

Г.А. Папченкова

ФГБУН Институт биологии  
внутренних вод им.  
И.Д.Папанина Российской  
академии наук, 152742,  
пос. Борок, Ярославская обл.  
Российская Федерация

**И**сследовано влияние ряда имидаклопридсодержащих инсектицидов (готовая форма в концентрации 200 г/л) на *D. magna*. Проведена сравнительная оценка их токсичности в острых и хронических экспериментах. Острые опыты проводились в диапазоне от  $3.0 \times 10^{-2}$ , до  $3.0 \times 10^{-7}$  мг/л (по действующему веществу) с шагом на порядок, установлены витальные, летальные и средние летальные концентрации. Хроническую токсичность исследовали в концентрациях  $3.0 \times 10^{-1}$ ,  $3.0 \times 10^{-2}$  и  $3.0 \times 10^{-7}$  мг/л, фиксировались суммарная плодовитость, сроки полового созревания (первый вымет), количество пометов, линейные размеры тела. Отмечено в большинстве инсектицидов достоверное отличие показателей воспроизводства от контроля. По результатам острого и хронического опыта токсичность инсектицидов убывает в следующем порядке: корадо, муссон, танрек, искра золотая, сонет+, биотлин.

**Ключевые слова:** токсичность, имидаклоприд, инсектицид, *Daphnia magna*.

**Введение.** В настоящее время для обработки садов, полей и огородов широко применяются высокотехнологичные пестициды, использующие в качестве действующего вещества имидаклоприд. Они обладают чрезвычайно высокой активностью и применяются в сверхнизких дозах. В свидетельстве о регистрации одного из них – инсектицида Танрек® рекомендуется следующие регламенты применения: для сельскохозяйственного производства от 0,05 до 1,0 л/га, для личных подсобных хозяйств 1–5 мл препарата для приготовления 10 л рабочего раствора, 5–10 л такого раствора достаточно для обработки 100 м<sup>2</sup> посадок [1]. Применение в сельском хозяйстве высокоэффективных препаратов неизбежно. К сожалению, эти средства действуют не только на вредителей конкретной культуры, но и на всю окружающую экосистему. В результате повсеместного применения имидаклоприд-

содержащих инсектицидов велика вероятность попадания их в водные экосистемы. Более того, действующее вещество остается и накапливается в окружающей среде, его токсическое действие может принять хронический характер. Номенклатура имидаклопридсодержащих инсектицидов в последнее время резко возросла, поэтому необходимо проведение оценки степени токсичности каждого из них в сравнении с другими.

*Целью настоящей работы* является исследование влияния ряда имидаклопридсодержащих инсектицидов на водных беспозвоночных на примере *Daphnia magna* Straus, 1820 (Daphniidae, Cladocera, Crustacea) и сравнительной оценке их токсических свойств в острых и хронических опытах.

**Материалы и методы исследования.** Объектами исследования являются следующие инсек-

тициды: биотлин, искра золотая, корадо, муссон, сонет+, танрек. Они предназначены для уничтожения колорадского жука, тли, тепличной белокрылки, цветоеда и других насекомых в полях, садах и виноградниках, в лесном хозяйстве и на приусадебных участках. Действующим веществом во всех вышеперечисленных препаратах является имидаклоприд в концентрации 200 г/л. По действующему веществу препараты относятся к классу неоникотиноидов, являются водорастворимыми концентратами. Ингредиенты, усиливающие активность действующего вещества или облегчающие использование инсектицида, не указаны. Все инсектициды зарегистрированы в России, выпускаются разными производителями: биотлин – ЗАО Фирма “Август”, искра золотая – ООО “ЦСП Техноэкспорт”, корадо – ООО “Ваше хозяйство”, муссон – ООО “МосАгро”, сонет+ – ООО “ЦСП Техноэкспорт”, танрек – ЗАО Фирма “Август”.

Биотестирование проводили на партеногенетически размножающейся лабораторной культуре *D. magna*. Дафнии – важное звено в трофической сети водных экосистем. Кроме того, они обладают высокой чувствительностью к химическим веществам и большой скоростью воспроизводства. Опыт проводили с учетом методических рекомендаций Государственного комитета РФ по охране окружающей среды [2].

В острых опытах испытывали растворы инсектицидов в диапазоне концентраций от  $3.0 \times 10^{-7}$  до  $3.0 \times 10^2$  мг/л в пересчете на имидаклоприд с шагом на один порядок. ПДК имидаклоприда в воде водоемов установлен как  $3.0 \times 10^{-2}$  мг/л [3], поэтому в работе использованы концентрации заведомо более высокие ( $3.0 \times 10^2$  мг/л) и сверхнизкие ( $3.0 \times 10^{-7}$  мг/л) по сравнению с ПДК. Растворы готовили на отстоянной водопроводной воде, насыщенной кислородом. Эту же воду использовали в качестве контроля. В острых опытах приготовленные растворы разливали в сосуды объемом 0,25 л в трех повторностях на каждую концентрацию токсиканта, как и контроль, сажали по 10 генетически однородных особей дафний, возраст которых не превышал 24 часа, длина тела была  $0,91 \pm 0,016$  мм. Фиксировали количество выживших дафний через 3, 24, 48, 72, 96 часов.

В хронических исследованиях готовили растворы в концентрациях  $3.0 \times 10^{-1}$ ,  $3.0 \times 10^{-2}$  (ПДК в воде водоемов),  $3.0 \times 10^{-7}$  мг/л. Растворы в перечисленных концентрациях и контроль разливали в стаканы емкостью 0,1 л в 10 повторностях, в каждый сажали по 1 особи индивидуально с целью регистрации первого вымета для каждой дафнии. Ежедневно контролировали появление молоди. Длительность хронического эксперимента 21 сутки. Рачков, как и в остром опыте,

ежедневно кормили хлореллой *Chlorella vulgaris* Wever., культура которой поддерживается в лаборатории. Измеряли под бинокулярным микроскопом при увеличении  $\times 8$  размер тела экспериментальных рачков в возрасте < 24 часа, 96 часов, 21 суток от вершины головы до основания хвостовой иглы. Поддерживали оптимальные условия среды: температуру 23-24°C и световой режим день-ночь (16+8 ч).

**Результаты и обсуждение.** Анализ результатов исследования острой токсичности показал, что все инсектициды в концентрации  $3.0 \times 10^2$  мг/л угнетающе действовали на рачков с момента посадки их в токсикант, гибель отдельных особей отмечалась уже через три часа, а через 24 часа наблюдалась 100% -ная смертность. В концентрации  $3.0 \times 10^1$  мг/л растворов всех инсектицидов через 24 часа смертность не превышала 10-15%, хотя визуально токсическое действие проявлялось явно – особи были малоподвижны, окраска тела была значительно светлее, чем в контроле. Через 48 часов в инсектицидах биотлин, корадо, муссон смертность составляла 100%; в остальных искра, сонет+, танрек 80-90%. Через 72 часа смертность во всех без исключения токсикантах в этой концентрации была 100%. В растворах инсектицидов концентрацией 3,0 мг/л визуальные эффекты токсического воздействия присутствовали уже через 24 часа, летальные эффекты выражены не так сильно. Так, только в растворе корадо этой концентрации через 72 часа смертность составляла 100%, в растворах биотлин и сонет+ порядка 60%, в инсектицидах искра, муссон, танрек смертность была менее 10%. Через 96 часов только в сонет+ смертность была 100%, в остальных инсектицидах повысилась незначительно.

В концентрациях  $3.0 \times 10^{-1}$  -  $3.0 \times 10^{-3}$  мг/л смертность не превышала 5-6% после экспозиции 72 часа, как практически и в увеличенной экспозиции 96 часов во всех токсикантах за исключением корадо. В растворе корадо при экспозиции 96 часов смертность составляла порядка 10-12%. В сверхнизких концентрациях токсикантов  $3.0 \times 10^{-4}$  -  $3.0 \times 10^{-7}$  мг/л выживаемость была фактически 100%-ная.

Результаты исследования острой токсичности позволяют рассчитать летальные концентрации токсиканта. Одна из основных характеристик острой токсичности это средняя летальная концентрация ( $LC_{50}$ ), т.е концентрация, вызывающая гибель 50% животных. На рис. представлены значения средней летальной концентрации ( $LC_{50}$ ) всех исследуемых инсектицидов через 24, 48, 72, 96 часов экспозиции тест-объекта в токсиканте. Как видно из графика, значения средней летальной концентрации существенно снижаются с увеличением экспозиции с 24 часов до 48 часов, незначительно с увеличением экспозиции с 48 ча-

сов до 72 часов и фактически остаются без изменения при 96 часовой экспозиции по сравнению с 72 часовой.

Исследования хронической токсичности строилось на изучении влияния инсектицидов на линейные размеры тела дафний и воспроизводство. Как уже отмечалось, в остром опыте рачки в растворах высокой концентрации в первые же часы начинали терять окраску, затем наблюдалось отставание в росте. В таблице приведены некоторые биологические параметры *D. magna* в эксперименте. Сильное влияние токсикант оказывал на линейный рост тела особей (измерения проводили в конце опытов – острого на 4-е и хронического на 21-е сутки). Достоверное отличие от контрольных значений этого показателя было для особей в концентрациях  $3.0 \times 10^{-1}$  -  $3.0 \times 10^{-2}$  мг/л всех инсектицидов, в концентрации  $3.0 \times 10^{-7}$  мг/л статистически значимо только для корадо, в остальных инсектицидах отмечается тенденция к уменьшению длины тела.

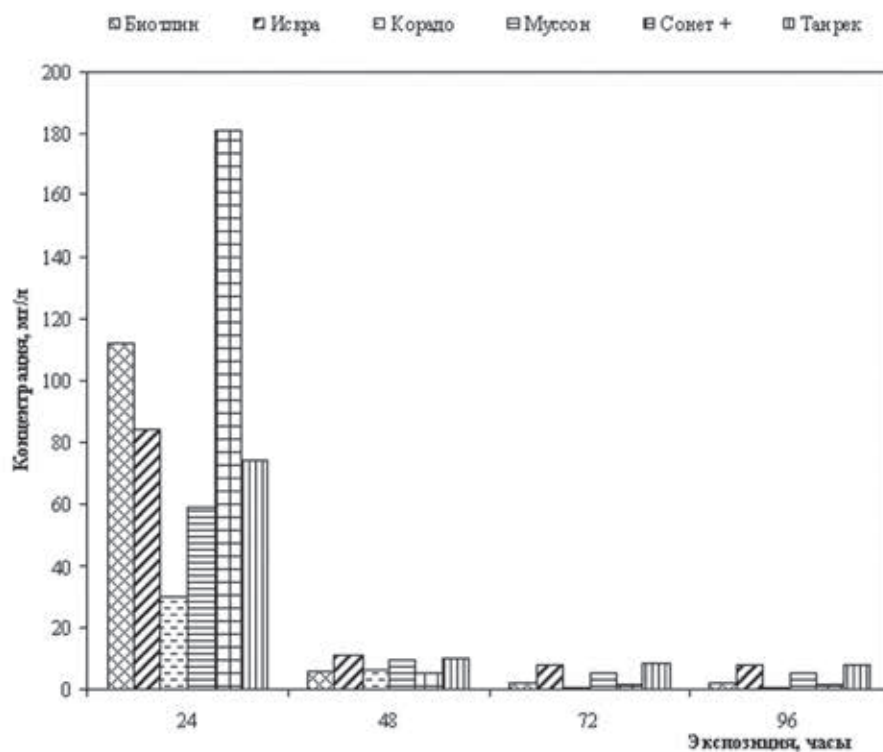
Влияние инсектицидов на воспроизводство изучали по следующим показателям: суммарная плодовитость, день первого вымета, количество пометов за 21 сутки опыта. Результаты опыта, приведенные в таблице, показывают, что суммарная плодовитость в 4-х из 6-ти инсектицидов статистически достоверно ниже контрольной в концентрациях  $3.0 \times 10^{-1}$  -  $3.0 \times 10^{-2}$  мг/л. В концен-

трации  $3.0 \times 10^{-2}$  мг/л (ПДК в воде водоемов) суммарная плодовитость ниже контрольной: корадо на 64,6%, муссон на 67,3%, сонет на 22,6%, танрек на 33,5%, а в концентрации  $3.0 \times 10^{-1}$  мг/л корадо на 31,1%, муссон на 55,9%, сонет на 32,3%, танрек на 39,0%. Достижения стадии половой зрелости рачков (сутки первого вымета) в преобладающем большинстве исследуемых инсектицидов достоверно отличается от контроля тоже в концентрациях  $3.0 \times 10^{-1}$  -  $3.0 \times 10^{-2}$  мг/л. У дафний в растворах этих концентраций первый вымет происходил на 1-3 дня позднее, чем в контроле. В растворах искра, корадо, муссон и танрек время первой репродукции достоверно отличается от контроля, в растворах препаратов биотлин, сонет+ достоверно отличается только в концентрации  $3.0 \times 10^{-1}$  мг/л. Вследствие задержки полового созревания в растворах инсектицидов вышеназванных концентраций количество пометов за 21 день достоверно ниже во всех препаратах (за исключением биотлин).

Аналогичные концентрации (в пересчете на имидаклоприд) использовались нами ранее в исследовании влияния одного из имидаклопридсодержащих инсектицидов на молодь *D. magna* [4]. В отличие от предыдущего опыта, отклик рачков на действие токсиканта носит менее выраженный характер, но тенденция сохраняется. В предыдущем эксперименте наблюдали за

состоянием яичников – периодически на протяжении всего эксперимента под микроскопом делали снимки внутренних органов рачков как контрольных особей, так и из раствора инсектицида. В результате обнаружено повреждающее действие препарата в период раннего развития рачков, выраженное в замедлении или даже прекращении развития ооцитов, что приводит к задержке начала репродукции и понижению воспроизводства.

Все инсектициды в опыте снижали интенсивность окраски тела особей. Это явление связано с резким уменьшением количества клеток жирового тела и его размера. Считается, что уменьшение жирового тела связано с недостаточным количеством корма [5], так как на начальном этапе адаптации к внешним воздействиям используют функциональные резервы.



**Рис.** Значения средней летальной концентрации (LC<sub>50</sub>) инсектицидов биотлин, искра золотая, корадо, муссон, сонет+, танрек через 24, 48, 72, 96 часов экспозиции в токсиканте.

Таблица

Биологические параметры *Daphnia magna* в растворах инсектицидов и контроле

Концентрация токсиканта, мг/л	Суммарная плодовитость, экз.	Сроки пер-вого вымета молоди, сут	Количество пометов за 21 сутки	Длина тела особи на 4-е сутки, мм	Длина тела особи на 21-е сутки, мм
Биотлин					
$3.0 \times 10^{-7}$	172,5±24,5	7,3±1,16	6,7±0,48	2,15±0,08	3,92±0,22
$3.0 \times 10^{-2}$	164,2±20,3	6,5±1,71	7,0±0	1,93±0,13*	3,87±0,08*
$3.0 \times 10^{-1}$	160,6±51,9	7,8±1,14*	6,1±1,52	1,77±0,14*	3,76±0,14*
Искра					
$3.0 \times 10^{-7}$	147,2±22,5	7,0±0,21	6,7±0,15	2,13±0,10	3,91±0,17
$3.0 \times 10^{-2}$	150,6±19,5	7,7±0,48*	6,3±0,48*	2,01±0,10*	3,91±0,10*
$3.0 \times 10^{-1}$	155,0±25,3	7,8±0,63*	6,3±0,67*	2,08±0,10*	3,85±0,11*
Корадо					
$3.0 \times 10^{-7}$	149,8±15,5	6,9±0,74	6,7±0,48	1,88±0,24*	3,52±0,11*
$3.0 \times 10^{-2}$	58,0±19,3*	9,4±1,06*	4,6±1,06*	1,64±0,08*	3,17±0,17*
$3.0 \times 10^{-1}$	113,0±25,1*	9,4±0,52*	5,3±1,06*	1,43±0,21*	3,29±0,10*
Муссон					
$3.0 \times 10^{-7}$	141,6±30,7	7,1±0,71	6,3±1,10	2,11±0,14	3,95±0,05
$3.0 \times 10^{-2}$	53,7±21,6*	10,0±3,36*	4,5±1,64*	1,66±0,14*	3,15±0,37*
$3.0 \times 10^{-1}$	72,3±13,5*	9,5±1,29*	5,3±0,96*	1,78±0,10*	3,25±0,18*
Сонет +					
$3.0 \times 10^{-7}$	155,6±28,2	6,7±0,95	6,8±0,63	2,10±0,16	3,97±0,06
$3.0 \times 10^{-2}$	127,6±21,4*	7,0±0,94	6,5±0,52*	1,96±0,18*	3,73±0,08*
$3.0 \times 10^{-1}$	111,4±21,9*	7,5±0,71*	6,2±0,42*	1,84±0,23*	3,60±0,10*
Танрек					
$3.0 \times 10^{-7}$	141,6±37,2	7,1±0,93	6,7±0,50	2,13±0,05	3,93±0,13
$3.0 \times 10^{-2}$	109,6±18,8*	7,5±0,85*	6,1±0,32*	1,95±0,20*	3,45±0,19*
$3.0 \times 10^{-1}$	100,6±16,2*	8,5±1,08*	5,9±0,57*	1,87±0,11*	3,51±0,08*
Контроль	164,7±19,5	6,4±0,7	7,0±0	2,28±0,22	4,02±0,06

**Примечание:** \* - показатели, достоверно отличающиеся от контрольных значений (оценка по критерию Стьюдента,  $p < 0,05$ ); Приведены значения среднего арифметического и стандартного отклонения.

Действующее вещество исследуемых инсектицидов – имидаклоприд характеризуется острым контактно-кишечным действием. Препарат активно воздействует на нервную систему вредных насекомых, блокируя никотинэргические рецепторы постсинаптического нерва. Он быстро подавляет передачу сигналов через центральную нервную систему вредителей, отчего они сначала теряют двигательную активность, прекращают питаться и погибают [1]. Возможно, в результате воз-

действия токсиканта нарушалась работа сложного фильтрационного аппарата дафний, особи получали недостаточное количество корма для благополучной жизнедеятельности. В результате уменьшения числа клеток жирового тела снижалось либо блокировалось накопление желтка в яйцеклетках, а также замедлялся рост особей.

Как мы видим по результатам хронического опыта, экспозиция дафний даже в растворе в концентрации равной ПДК в воде водоемов –

$3.0 \times 10^{-2}$  мг/л имидаклоприда далеко не безобидна для дафний, поскольку первое отрождение молоди при этой концентрации происходило на 1-3-е суток позднее, чем в контроле, снижалась суммарная плодовитость. Особи имели достоверно меньшие линейные размеры тела, теряли окраску. Все это сигнализировало о неблагополучии. Действующее вещество имидаклоприд обнаруживается в пробах воды, в местах проведения постоянного эколого-токсикологического мониторинга. Такие данные по России в литературных источниках не обнаружены. В Европе и Северной Америке имидаклоприд и продукты его разложения зарегистрированы в природных водоемах от следовых количеств до 11,9 мкг/л. Отмечено, что его содержание в воде повышается после дождей за счет вымывания из почв. Инсектицид весьма стоек, по данным разных исследователей период полураспада в водной среде составляет от 36 суток и более, в почве значительно выше [6]. В связи с этим хроническое действие имидаклоприда на компоненты экосистем весьма вероятно.

**Заключение.** Несмотря на то, что все исследованные имидаклопридсодержащие инсектициды биотлин, искра золотая, корадо, муссон, сонет+, танрек имеют одинаковую концентрацию действующего вещества (200 г/л) токсическое воздействие на *D. magna* оказалось разным. Средняя летальная концентрация ( $LC_{50}$ ) корадо в первые 24 часа эксперимента была в 2 раза меньше, чем у муссона, в 3 раза меньше чем у танрека, искры золотой, биотлина и в 6 раз меньше, чем у сонета+. Влияние на воспроизводство тоже разное. Так суммарная плодовитость дафний в препаратах корадо, муссон, танрек, сонет в 1,5-2 раза меньше контроля, особенно существенное отличие у дафний из растворов корадо и муссон. Сроки полового созревания и количество пометов достоверно отличаются от контроля. Суммируя результаты острого и хронического опыта можно сделать вывод, что токсичность инсектицидов убывает в следующем порядке: корадо, муссон, танрек, искра золотая, сонет, биотлин.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Инсектицид Танрек®. Презентация фирмы «Август» «Быстрый эффект и длительное воздействие». Available at: [http://www.avgust.com/product/?country=rf&drug\\_type=73&drug\\_id=1082](http://www.avgust.com/product/?country=rf&drug_type=73&drug_id=1082).

2. Токсикологические методы контроля. Методика определения токсично-

сти воды по смертности и изменению плодовитости дафний. М.: Гос. комитет РФ по охране окружающей среды; 1999.

3. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень) ГН 1.2.1323\_М.: Минздрав России; 2003.

4. Папченкова Г. А., Макрушин А. В. Влияние инсектицида Танрек® на репродукцию и жизнедеятельность *Daphnia magna* STRAUS в 15-суточном тесте. Биология внутренних вод. 2013; (4): 74-81.

5. Лесников Л. А. Методика оценки влияния воды из природных водоемов

на *Daphnia magna* Straus. В кн. Методики биологических исследований по водной токсикологии. М.: Наука. 1971: 157-166.

6. Canadian water quality guidelines: Imidacloprid. The Canadian council of ministers of the environment. 2007.

## REFERENCES:

1. Insecticide Tanrec®. Company "August" "Quick effect and lasting impact." Available at: [http://www.avgust.com/product/?country=rf&drug\\_type=73&drug\\_id=1082](http://www.avgust.com/product/?country=rf&drug_type=73&drug_id=1082).

2. Toxicological methods of control. Methods of determining the toxicity of water in mortality and fertility

change in daphnia. Moscow: State Committee of the Russian Federation for Environmental Protection; 1999 (in Russian).

3. Hygienic standards for pesticides in the environment (the list) ГН 1.2.1323\_ Moscow: Russian Ministry of Health; 2003 (in Russian).

4. Papchenkova G.A., Makrushin A.V. The Effect of the Insecticide Tanrec® on Reproduction and Vital Activity of *Daphnia magna* Straus in a 15-Day Test. Inland Water Biology. 2013; 6 (4): 344 - 350 (in Russian).

5. Lesnikov L.A. Methods of assessing the effect of water from natural water

bodies on *Daphnia magna* Straus. In Methods of biological studies on aquatic toxicology. Moscow.: Science. 1971; 157-166 (in Russian).

6. Canadian water quality guidelines: Imidacloprid. The Canadian council of ministers of the environment. 2007.

G.A. Papchenkova

## COMPARATIVE EVALUATION OF TOXICITY OF IMIDACLOPRID-BASED INSECTICIDES TO DAPHNIA MAGNA

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, 152742, settlement Borok, Yaroslavl Region., Russian Federation

The influence of a number of imidacloprid-based insecticides (ready form at a concentration of 200 g/l) to *D. magna* was investigated. A comparative evaluation of their toxicity in acute and chronic experiments was performed. Acute experiments were carried out in the range of  $3.0 \times 10^2$  to  $3.0 \times 10^{-7}$  mg/l (as active material) with an order interval; vital, lethal and mean lethal concentrations were established. Chronic toxicity was investigated in concentrations of  $3.0 \times 10^{-1}$ ,  $3.0 \times 10^{-2}$  and  $3.0 \times 10^{-7}$  mg/l. Total fertility, puberty timing (first shedding), number of broods, linear size of the body were fixed. It was noted that reproduction indicators differed significantly from those of the control for the majority of insecticides. Based on the results of acute and chronic testing, toxicity of insecticides decreases in the following order: corado, mosson, tanrek, gold insecticide, zonet + biotlin.

**Keywords:** Toxicity, imidacloprid, insecticide, *Daphnia magna*.

Переработанный материал поступил в редакцию 09.02.2016 г.

## «СЪЕЗДЫ И КОНФЕРЕНЦИИ»

### **ИНФОРМАЦИЯ О VII НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИЯ «АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ».**

24 марта 2016 года состоялась VII ежегодная Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы оценки безопасности лекарственных средств», организованная Секцией лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов совместно с НИИ фармации ГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ.

Основной целью конференции являлось обсуждение проблем, связанных с доклинической и клинической оценкой безопасности лекарственных средств в нашей стране. Большое внимание уделялось особенностями оценки безопасности лекарственных препаратов различного происхождения, современным подходам к вопросам безопасности лекарств в нашей стране и за рубежом, в том числе с использованием информационных технологий. Были рассмотрены также вопросы, касающиеся изменений законодательной и регуляторной систем обращения лекарственных средств в РФ.

В рамках работы конференции были представлены на обсуждение следующие вопросы:

1. Новое в законодательном регулировании оценки безопасности и эффективности лекарственных средств
2. Вопросы доклинической экспертизы лекарственных средств
3. Роль лекарственной токсикологии в персонализированной медицине
4. Проблемы доклинической и клинической оценки безопасности различных классов лекарственных средств
5. Новые критерии оценки безопасности лекарственных средств

В работе конференции приняли участие 216 участников (очных и заочных), авторами представленных докладов являлись 116 человек, в том числе 2 участника из зарубежных стран (Узбекистан, Белоруссия). Участниками

конференции являлись научные сотрудники, преподаватели ВУЗов, представители регуляторных органов России, члены Совета по этике Минздрава России, представители Ассоциации международных фармацевтических производителей (АИРМ), менеджеры фармацевтических фирм, в том числе представители ведущих отечественных и зарубежных производителей и контрактных исследовательских организаций, молодые ученые, аспиранты, студенты.

На конференции было заслушано 19 устных докладов: «Роль доклинических токсикологических исследований в планировании 1-ой фазы клинических испытаний инновационных лекарственных средств» (Гуськова Татьяна Анатольевна – Председатель секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, заслуженный деятель науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., профессор), «Вопросы безопасности лекарственных препаратов с позиции врача клинического фармаколога» (Журавлева Марина Владимировна – ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ – д.м.н., профессор), «Экспертиза безопасности лекарственных средств: требования к объему и качеству доклинических исследований» (Енгальцева Г. Н., Сюбаев Р. Д., Васильев А. Н. – ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ, докладчик: Енгальцева Галина Нинелевна – ведущий эксперт, к.б.н.), «Применение показателя LD 50 при оценке влияния циркадного ритма на чувствительность животных к изониазиду» (Усов К. И., Гуськова Т. А., Юшков Г. Г. – НИИ Биофизики ИЛЦ ФГБОУ ВО Ангарский государственный технический университет, ГБОУ ВПО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России, Докладчик – Усов Константин Ильич – зав. лабораторией токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ Ангарский государственный технический Университет, к.б.н.), «Левокарнитин, как средство метаболической протекции в схеме

стандартной терапии аутоиммунного гломерулонефрита в эксперименте» (Сивак К. В., Саватеева-Любимова Т. Н., Любишин М. М. – ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Докладчик: Любишин Михаил Михайлович – научный сотрудник, к.б.н.), «Инновационные технологии при проведении доклинических исследований. Мультиспектральная оптоакустическая томография мелких лабораторных животных» (УО Полесский государственный университет, Республика Беларусь, г.Пинск, Докладчик: Лазарев Павел Михайлович, руководитель НИЛ лонгитудинальных исследований, к.х.н.), «Новые критерии оценки безопасности лекарственных средств растительного происхождения» (Терёшкина О.И., Рудакова И. П., Самылина И. А. (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова Минздрава России НИИ фармации, докладчик: Терёшкина Ольга Ивановна – Ученый секретарь секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, Ученый секретарь НИИ фармации, к.фарм.н.), «О влиянии сухого экстракта лапчатки белой (*Potentilla alba* L.) на генеративную функцию крыс Т.Б. Савинова, Л.В. Крепкова, ФГБНУ «ВИЛАР», г. Москва, Докладчик Савинова Тамара Борисовна – ведущий научный сотрудник отдела токсикологии, к.б.н.), «Оценка безопасности применения лекарственного растительного сырья и масляных экстрактов на его основе (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной)» (Тринеева О. В., Сливкин А. И.- ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Докладчик: Тринеева Ольга Валерьевна – доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, к.фарм.н.), «Исследование эффективной концентрации токоферола ацетата в дерматологической мази (Какорин П.А, Цукурова В.А, Козин С.В, Персанова Л.В, Андреевичева Т.Ю, Савельева К.Р – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова Минздрава России НИИ Фармации, ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик», докладчик: Какорин Павел Алексеевич – соискатель кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета), «Повышение безопасности клинического использования лекарственных средств различных фармакологических групп с помощью методик фенотипирования различных изоферментов системы цитохрома P 450» (Раменская Г. В., Смирнов В. В. – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, докладчик: Смирнов Валерий Валерьевич – доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевти-

ческого факультета, к.фарм.н.), «Мониторинг безопасности и минимизация рисков в процессе разработки лекарственных препаратов» Корнеева Наталия Ивановна – менеджер по фармакобезопасности – Представительство АО «Лаборатории Сервье» (Франция), «Законодательное регулирование мониторинга и оценки безопасности вакцин» (Снегирева И. И., Затолочина К. Э., Дармостукова М. А., Аляутдин Р. Н., Романов Б. К. – ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ, Докладчик: Снегирева Ирина Илларионовна – начальник отдела экспертизы побочного действия МИБП ЦЭБЛС, к.м.н.), «Государственная федеральная система мониторинга движения лекарственных препаратов, состояние и перспективы» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова, Грейбо Сергей Владимирович – доцент кафедры промышленной фармации, к.т.н.), «Безопасность пациентов в клинических исследованиях: от первого применения у человека до выхода препарата на рынок» Трахтенберг Юлия Александровна – медицинский директор контрактно-исследовательской организации ИФАРМА, к.м.н.), «Организация фармаконадзорной деятельности в фармацевтической компании» Березина Вера Сергеевна – Генеральный директор ООО «ЦКИ» к.фарм.н., «Осуществление фармаконадзора при проведении клинического исследования лекарственного средства Крючков Дмитрий Витальевич ООО Экс севересеч (X7ResearchCo.Ltd), «Современные ИТ-системы в помощь специалисту для анализа больших данных по безопасности применения лекарственных средств» (Исакова Ю. А. Соавтор: Бледжянц Г. А., Попов В. В., Попов А. Н. -НУЗ «НКЦ ОАО «РЖД», ЗАО «Соцмедика», Технопарк «Сколково» (докладчик Юлия Исакова – Ведущий научный сотрудник НУЗ «НКЦ ОАО «РЖД»), «ВЕБ-ресурсы для оценки безопасности лекарственных средств» – Филимонов Д. А., Беженцев В. М., Дмитриев А. В., Дружиловский Д. С., Иванов С. М., Кознова В. И., Лагунин А. А., Погодин П. В., Поройков В. В., Рудик А. В., Тарасова О. А. ФГБУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича» – докладчик: Филимонов Дмитрий Алексеевич – ведущий научный сотрудник, к. физ.- мат.н.).

Участники конференции могли ознакомиться и с 20-ю постерными докладами: Алексеева С. В., Кузнецова О. С., Коваленко Л. П. «Возможности использования реакции воспаления на конканавалин А при изучении безопасности и иммунофармакологических свойств новых лекарственных средств» (ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Мо-

сква), Березовская И. В. Новые проблемы безопасности воспроизведенных лекарственных препаратов» (ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ»), Добрина Ю.В, Мальцева А. А. «Изучение биологического накопления некоторых экотоксикантов в листьях лимонника китайского, заготовленных в Воронежской области» (ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет), Чистякова А. С., Мальцева А. А. «Определение некоторых экотоксикантов в траве горца почечуйного заготовленной в Воронежской области» (ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет), Коренская И. М., Сулин В. Ю., Постыка А. Н., Бузлама А. В., Измалкова И. Е. «Оценка острой и хронической токсичности жирного масла из семян Амаранта печального» ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, фармацевтический факультет, Сологова С. С., Стреляева А.В, Лежава Д. И. «Изучение острой и хронической токсичности петролеумного экстракта из плодов и плодовой кожуры грецкого ореха в стадии молочно-восковой зрелости» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва), Стреляева А. В. Радченко Л. Г., Сологова С. С., Рожнова С. А. «Изучение хронической токсичности, раздражающего и аллергизирующего действия настойки матричной гомеопатической веселки обыкновенной» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия; Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Пирогова Минздрава России, Москва), Кривда Я. В., Сологова С. С., Стреляева А. В., Рожнова С. А., Бабажанов А. С. «Изучение фармакологической активности и токсичности петролеумного экстракта травы пижмы обыкновенной» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва; Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Пирогова Минздрава России, Москва; Самаркандский государственный медицинский институт, Узбекистан), Поклонская А.А, Сологова С. С., Стреляева А. В. Рожнова С. А. «Изучение фармакологической активности и острой и хронической токсичности петролеумного извлечения из травы ромашки аптечной» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Пирогова Минздрава России, Москва), Какорин П. А., Бобок М.Н, Цукурова В.А, Козин С. В. «Использование экспериментальных животных в доклинических исследованиях» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Се-

ченова Минздрава России), Меньшикова Л. А., Савченко А. Ю. «Первые шаги по изучению инновационного противотуберкулезного препарата тиозонид в исследованиях у здоровых добровольцев» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России НИИ фармации, ФГБУН НЦБМТ ФМБА России), Мельник Е. В., Смирнов В. В., Раменская Г. В. «Перспективы создания лекарственных средств на основе малых интерферирующих РНК» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России), Ермолаева Л. А., Фомина Т. И., Дубская Т. Ю., Ветошкина Т. В., Федорова Е. П., Ламзина Т. Ю., Неупокоева О. В., Скурихин Е. Г., Крупин В. А., Пан Э. С., Ермакова Н. Н., Мадонов П. Г., Чуринов А. А. Доклиническое исследование безопасности фармацевтической субстанции на основе полоксамер-гиалуронат-эндо- $\beta$ -n-ацетилгексозаминидазы (ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, г. Томск, Россия, ООО «Саентифик Фьючер Менеджмент», г. Новосибирск), Дубская Т. Ю., Ветошкина Т. В., Ермолаева Л. А., Фомина Т. И., Чуринов А. А., Дыгай А. М., Бекарев А. А., Артамонов А. В., Мадонов П. Г. Оценка гепатопротективного действия иммобилизованного Г-КСФ на модели токсического гепатита (ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга», г.Томск, Россия), Маргаева Б. Ю. «Сравнительное исследование препаратов-биоаналогов эноксопарина натрия для определения анти- $\text{IIa}$  активности в условиях *in vivo*» ( ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ фармации), Сусоев А. И., Авдеева О. И., Мужикян А. А., Шедько В. В., Макарова М. Н., Макаров В. Г. «Опыт доклинического изучения оральнодиспергируемых лекарственных средств на хомяках» (ЗАО «Институт экспериментальной фармакологии», Санкт-Петербург, Россия), А.О. Немцев, И.В.Смирнов, И.В.Гравель, Т.О. Мурашко, А.А.Иванов, П.С. Постников, А.А.Бондарев «Исследование ulcerогенной активности фенол-гликозидных соединений» (ФГБУ ВПО Алтайский государственный университет НИИ Биологической медицины, Россия, Национальный исследовательский Томский политехнический университет Кафедра биотехнологии и органической химии, Россия, ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России), Аверина О. А., Шиндяпин В. В., к.б.н. Ловать М. Л. «РЫБА ZEBRAFISH (BRACHYDANIO RERIO) – модель нового поколения для докли-

нических испытаний» (ИЦ ВЭК ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»; 2. – МГУ им. М.В. Ломоносова, ФФМ), Стреляева А. В., Сологова С. С., Преферанская Н. Г., Зацепилова Т. А., Григоревских Е. М. «Изучение аллергизирующего и раздражающего действия петролеумного извлечения зверобоя» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова Минздрава России, Москва, Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Пирогова Минздрава России, Москва), Загорская В. Л., Терёшина Н.С. «Анамирта коккулюсовидная – особенности безопасного использования в медицинской практике» (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ НИИ фармации, Москва).

Конференция вызвала живой интерес и показала, что ежегодное проведение данного научного мероприятия вызывает большую заинтересованность со стороны широкого круга специалистов из различных городов РФ и ряда зарубежных стран. Была отмечена важность обсуждения законодательных и регуляторных изменений в области оценки безопасности на всех этапах жизненного цикла лекарственных средств, результатов исследований в области лекарственной токсикологии, особенностей формирования отечественной системы фармаконадзора, возможности использования информационных технологий в оценке безопасности лекарственных средств.

Программа работы конференции была выполнена в полном объеме, по материалам конференции подготовлены материалы для опубликования в журналах «Сеченовский вестник» и «Токсикологический вестник».

По итогам работы конференции ее участниками был принят проект Резолюции, в котором было рекомендовано:

- опубликовать материалы конференции (тезисы докладов) в журналах «Сеченовский вестник» и «Токсикологический вестник».
- провести следующую ежегодную VIII научно-практическую конференцию, посвященную актуальным проблемам оценки безопасности лекарственных средств с участием представителей научной общественности, ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, фармацевтических фирм-производителей.

***Председатель секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор Т.А.Гуськова***

***Секретарь секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, к.ф.н. О.И.Терешкина***

