

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



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

№ 4 (139), 2016

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Н.И. Шеина, Э.Г. Скрябина, Ю.П. Пивоваров, Е.В. Буданова, Л.И. Мялина, В.В. Королик, В.В. Колесникова, Л.П. Сазонова, Г.Г. Чуб ПРОБЛЕМА БИОБЕЗОПАСНОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В РОССИИ: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ ..2		
О.В. Бударина, М.А. Пинигин, Л.А. Федотова, А.Г. Малышева ОБОСНОВАНИЕ МАКСИМАЛЬНОЙ РАЗОВОЙ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛЕТУЧИХ КОМПОНЕНТОВ ВЫБРОСОВ ПРОИЗВОДСТВА ПИЩЕВЫХ АРОМАТИЗАТОРОВ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ	11	
О.М. Журба, Е.А. Капустина ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ ВИНИЛХЛОРИДА НА БЕЛЫХ КРЫС	16	
В.А. Вокина, Н.Л. Якимова, Л.М. Соседова АНАЛИЗ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КРАТКОВРЕМЕННОЙ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКА	21	
П.В. Макаров, Л.В. Погорельская НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ САЛЬМОНЕЛЛЕЗОМ И НЕИНФЕКЦИОННЫМ ГАСТРОЭНТЕРИТОМ, СВЯЗАННЫМ С ТОКСИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ АЛКОГОЛЯ	24	
Д.А. Халютин, Р.А. Тарумов, А.А. Ховпачёв, В.Л. Рейнюк, А.Е. Антушевич, А.Н. Гребенюк ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТЯЖЕЛОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТИЛОВЫМ СПИРТОМ	28	
А.С. Богачева, Е.В. Полозова, И.Н. Ключкин ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ КИСЛОТ ДЛЯ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ	36	
Л.А. Коваленко, Е.М. Усачева, Г.Н. Суходолова, С.И. Страхов К ВОПРОСУ О РАЗВИТИИ АСТЕНИИ У ДЕТЕЙ В СОМАТОГЕННОМ ПЕРИОДЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ПСИХОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИМИ СРЕДСТВАМИ	39	
О.Н. Антосюк, А.М. Марвин <i>Drosophila melanogaster</i> КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА МЕТОТРЕКСАТА (МЕТОТРЕХАТЕ)	45	
□ Экологическая токсикология		
Д.В. Микряков, Н.И. Силкина, В.Р. Микряков НЕКОТОРЫЕ ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЗОЛОТОГО КАРАСА <i>CARASSIUS CARASSIUS</i> ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СУБЛЕТАЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ МЕДИ	49	
□ Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ		
Н.И. Шеина, Э.Г. Скрябина, Л.И. Мялина, Е.В. Буданова, Л.П. Сазонова, В.В. Колесникова, Г.Г. Чуб МИКРООРГАНИЗМ <i>BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS</i> OPS-32	54	
□ Съезды, конференции, совещания		56
□ Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам		59

N.I. Sheina, E.G. Skryabina, Yu.P. Pivovarov, E.V. Budanova., L.I. Myalina, V.V. Korolik., V.V. Kolesnikova, L.P. Sazonova, G.G. Chub. INDUSTRIAL MICROORGANISMS BIOSAFETY PROBLEM IN RUSSIA: PRESENT AND FUTURE	2	
O.V. Budarina, M.A. Pinigin, L.A. Fedotova, A.G. Malysheva SUBSTANTIATION OF MAXIMUM SINGLE ALLOWABLE CONCENTRATION OF FOOD FLAVORS VOLATILE COMPONENTS IN THE RESIDENTIAL AREAS ATMOSPHERIC AIR	11	
O.M. Zhurba, E.A. Kapustina EXPOSURE TO VINYL CHLORIDE METABOLITES STUDIED IN WHITE RATS	16	
V.A. Vokina, N.L. Yakimova., L.M. Sosedova ANALYSIS OF RESULTS REPRODUCIBILITY IN THE CYTOTOXICITY STUDIES PERFORMED WITH THE USE OF BULL SPERMATOCYTES SHORT-TERM SUSPENSION CULTURE	21	
P.V. Makarov, L.V. Pogorelskaya CERTAIN IMMUNITY INDICES IN PATIENTS WITH SALMONELLOSIS AND NON INFECTIOUS GASTROENTERITIS LINKED TO ALCOHOL TOXIC EFFECT	24	
D.A. Halyutin, R.A. Tarumov, A.A. Hovpachev, V.L. Reynyuk, A.E. Antushevich, A.N. Grebenyuk THE INFLUENCE OF PEPTIDE PREPARATIONS ON BIOCHEMICAL INDICES OF RAT BLOOD SERUM, BRAIN AND LIVER AT ACUTE ETHANOLPOISONING	28	
A.S. Bogacheva, E.V. Polozova, I.N. Klushkin EXPERIMENTAL EVALUATION OF ACIDS TOXICITY TO UNICELLULAR TEST OBJECTS	36	
L.A. Kovalenko, E.M. Usacheva, G.N. Sukhodolova, S.I. Strakhov ON THE QUESTION OF THE DEVELOPMENT OF ASTHENIA IN CHILDREN IN THE SOMATOGENIC PERIOD OF ACUTE POISONINGS WITH PSYCHOPHARMACOLOGICAL AGENTS ...	39	
O.N. Antosyuk, A.M. Marvin THE INVESTIGATION OF METHOTREXATE BIOLOGICAL EFFECTS ON EXAMPLE OF <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i>	45	
□ Ecotoxicology		
D.V. Mikryakov, N.I. Silkina, V.R. Mikryakov SOME IMMUNOBIOCHEMICAL INDICES IN CRUCIAN CARP <i>CARASSIUS CARASSIUS</i> UNDER EXPOSURE TO SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF COPPER IONS	49	
□ News on toxicity and hazard of chemical and biological substances		
N.I. Sheina, J.G. Skryabina, L.I. Myalina, E.V. Budanova, L.P. Sazonova, V.V. Kolesnikova, G.G. Chub MICROORGANISM <i>BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS</i> OPS-32	54	
□ Congresses, conferences, meetings		56
□ New publications on toxicology and related disciplines		59

УДК 579.66 : 615.099

ПРОБЛЕМА БИОБЕЗОПАСНОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В РОССИИ: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

*Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрябина¹, Ю.П. Пивоваров¹,
Е.В. Буданова², Л.И. Мялина¹, В.В. Королик¹,
В.В. Колесникова¹, Л.П. Сазонова¹, Г.Г. Чуб¹*

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
117997, г. Москва, Российская Федерация

²ФГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет» им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991,
г. Москва, Российская Федерация

Проведен анализ современных данных, посвященных использованию и оценке биобезопасности промышленных микроорганизмов. На основе собственных экспериментальных данных по изучению характера вредного действия биотехнологических штаммов предложена классификация их по степени опасности, выявлена зависимость опасности штаммов от их таксономического положения. Обсуждаются перспективы исследования проблемы биобезопасности штаммов микроорганизмов, используемых в биотехнологиях.

Ключевые слова: биобезопасность, биотехнологические штаммы, алергенность, иммуотропность.

Введение. Биотехнология как отрасль промышленности интенсивно развивается не только за рубежом, но и в нашей стране. Издавна «полезные» бактерии и микроскопические грибы использовали в пищевой промышленности: в производстве кисломолочных продуктов и сыра, дрожжевого хлеба, квашеной капусты и т.д.

В настоящее время ассортимент используемых штаммов-продуцентов и производимой продукции значительно расширился. Биотехнологическая промышленность на основе управления жизнедеятельностью мельчайших организмов получает широкий ассортимент продукции, используемый в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве, пищевой и химической промышленности и др.

К биотехнологической продукции относятся антибиотики, витамины, ферменты, вакцины, гормоны, аминокислоты и нуклеотиды, комплемент и препараты крови, иммуномодуляторы и антитела, диагностические препараты, сердечно-сосудистые, противоопухолевые и множество других фармакологических препаратов. С помощью биотехнологий получают пищевые и кормовые белки, биологические средства защиты растений, инсектициды, сахара, спирты, липиды, дрожжи, органические и неорганические кислоты, бутанол, ацетон и многие другие вещества, без которых немислимо существование современного человека.

Методом геной инженерии получены рекомбинантные штаммы-суперпродуценты, многие из которых нашли практическое применение в медицине. С их помощью производят вакцины против гепати-

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natal'ja Ivanovna), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, ni_sheina@mail.ru

Скрябина Эмилия Григорьевна (Skrjabina Jemilija Grigor'evna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация

Пивоваров Юрий Петрович (Pivovarov Jurij Petrovich), академик РАН, доктор медицинских наук, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vjacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, г. Москва, Российская Федерация, e.v.budanova@mail.ru

Мялина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Королик Виктор Вячеславович (Korolik Viktor Vjacheslavovich), доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Чуб Галина Георгиевна (Chub Galina Georgievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

та В, интерлейкины, инсулин, гормоны роста, интерфероны, фактор некроза опухолей, пептиды тимуса, миелопептиды, антигены ВИЧ, фактор свертываемости крови, моноклональные антитела, а также многие антигены для диагностических целей.

Биотехнологические процессы (биодegradация и биоконверсия) используются в оздоровлении окружающей среды, в частности, с их помощью проводят очистку почвы, водоемов и воздуха от загрязняющих веществ.

Ряд принципиальных особенностей промышленной биотехнологии (высокая рентабельность, технологическая простота) позволяет отнести микробиологическую промышленность к одной из наиболее перспективных и экологически безопасных отраслей народного хозяйства, которая может стать первым типом производств, действительно не имеющих отходов, что еще раз подчеркивает актуальность проблемы биобезопасности промышленных микроорганизмов, полученных методами селекции и генной инженерии.

В начальный период использования штаммов микроорганизмов в биотехнологиях полагали, что данные микроорганизмы безопасны для человека и окружающей среды, т.к. они выделены из природной экологической «ниши».

Однако дальнейшие исследования показали, что биотехнология, как и любая промышленная деятельность человека, является источником загрязнения окружающей среды. Медико-экологическая опасность выбросов микробиологических предприятий определяется в первую очередь присутствием в них живых или убитых клеток микроорганизмов. Хотя в биотехнологии имеют дело только с непатогенными формами организмов, но даже попадание их в высоких концентрациях в окружающую среду может вызывать в ней нежелательные и неконтролируемые изменения.

Следствием выброса живых клеток микроорганизмов-продуцентов из биореакторов, сброса сточных вод, содержащих значительные концентрации биотехнологических штаммов микроорганизмов, принадлежащих к родам *Pseudomonas*, *Candida*, может быть изменение структуры экологических ниш в окружающих предприятия почве и воде. Результатом этого может быть также и нарушение состава сообществ микроорганизмов, взаимодействующих в этих нишах, а значит, и иная роль в круговороте веществ в природе.

Специфические нарушения здоровья работающих в микробиологической промышленности и населения селитебных зон наблюдаются в виде перестройки иммунобиологической реактивности организма с признаками аллергического повреждения респираторных органов, слизистых верхних дыхательных путей, кожных покровов,

желудочно-кишечного тракта и дисбактериоза кишечника.

В современных биотехнологиях используются около сотни видов микроорганизмов, принадлежащих к различным таксономическим группам микроорганизмов: грамотрицательные и грамположительные спорообразующие и не имеющие спор бактерии, коринеформные бактерии, нокардиоформные актиномицеты и собственно актиномицеты, дрожжеподобные грибы и микровицеты.

Токсикологические и гигиенические исследования промышленных микроорганизмов были начаты примерно в середине прошлого века. Большой вклад в изучение проблемы гигиенического нормирования биотехнологических штаммов внесли сотрудники ряда научно-исследовательских институтов, в том числе института экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина, НИЦ антибиотиков, Государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова, НИИ биологического приборостроения и ВНИЦ по безопасности биологически активных веществ. Были сформулированы основные методологические подходы к оценке неблагоприятного действия штаммов-продуцентов, предложена принципиальная схема проведения токсиколого-гигиенических исследований новых биотехнологических штаммов [1-3].

В основу решения проблемы биобезопасности промышленных микроорганизмов в нашей стране положены общие методологические принципы нормирования вредных веществ в объектах окружающей среды – определение порогового уровня биологического воздействия и установление на этой основе гигиенического норматива (ПДК в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест) [4].

Согласно принципиальной схеме токсиколого-гигиеническую оценку и санитарную стандартизацию промышленных микроорганизмов целесообразно производить по трем основным этапам [5,6]:

Первый этап исследования включает в себя сбор информации об интересующем исследователя микроорганизме и проведение первичной токсикологической оценки – исследование патогенных свойств нового штамма. Результатом является решение вопроса о возможности использования его в биотехнологиях.

Второй этап предусматривает полную токсикологическую оценку штамма с последующим экспериментальным обоснованием норматива (ПДК в атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны).

На третьем этапе проводят клинко-гигиенические исследования с целью корректировки экспериментально установленных ПДК.

Однако нельзя забывать, что принципиально важным является положение о том, что воздействие биотехнологических штаммов на организм определяется взаимодействием между двумя биологическими системами «микроорганизм – макроорганизм», что определяет специфические особенности нормирования их в объектах окружающей среды.

Исследованиями академика РАН Ю.П. Пивоварова и его сотрудников в однократных опытах выявлена зависимость между степенью потенциальной опасности и количественными характеристиками «ферментов патогенности», установлены количественные критерии оценки потенциальной опасности производственных штаммов, которые позволяют разделить их на три группы: штаммы, не рекомендуемые для использования; штаммы, находящиеся на грани риска их применения; штаммы, рекомендованные для использования их в биотехнологии [2].

При проведении длительных экспериментов было показано, что воздействие биотехнологических штаммов не оказывает токсического действия на функциональное состояние органов и систем животных. Основными проявлениями вредного действия промышленных микроорганизмов являются иммуноотропный и сенсибилизирующий эффекты, дисбиотическое действие и снижение неспецифической защиты организма (альвеолярный фагоцитоз) [7].

Важная роль в освобождении организма от попавших в него микроорганизмов принадлежит неспецифическим факторам защиты или неспецифической резистентности организма. Неспецифическая или естественная резистентность к инфекции обусловлена действием множества гуморальных и клеточных факторов неспецифической защиты, к которым относятся физиологические барьеры (кожа, слизистые, вещества, оказывающие бактерицидное действие), гуморальные (лизоцим) факторы и фагоцитирующие клетки или фагоциты (полиморфноядерные лейкоциты, моноциты и макрофаги).

При попадании микробов в организм развивается воспалительная реакция, при которой наблюдается усиление фагоцитирующей активности клеток. Образующийся воспалительный экссудат характеризуется повышением бактерицидного действия лизоцима, комплемента, пропердина и фибронектина. Значимым фактором защиты являются интерлейкин-1, интерферон.

Несомненно, наиболее эффективным компонентом защиты от микроорганизмов является фагоцитоз, когда они преодолевают эпителиальные барьеры. При попадании микроорганизмов через органы дыхания важным защитным барьером являются альвеолярные макрофаги и нейтрофилы.

Роль альвеолярных макрофагов при воздействии микроорганизмов-продуцентов и продуктов микробиологического синтеза изучена достаточно хорошо [6].

В основе разработок, посвященных альвеолярным макрофагам, как критериальной мишени неблагоприятного эффекта биологических загрязнителей, лежит сравнительное изучение ферментов различной локализации: ферментов, растворимых в цитозоле (лактатдегидрогеназа) и связанных с субклеточными структурами лизосом (кислые гидролазы, кислая фосфатаза). Определение ферментов производится как в суспензии альвеолярных макрофагов, так и в супернатанте с последующим расчетом распределения активности ферментов внутри клеток и в надосадочной жидкости.

При неблагоприятном воздействии промышленных микроорганизмов в легких изменяется абсолютное число альвеолярных макрофагов, способность их к адгезии, количество лизосом и лизосомоподобных структур в них. Присутствие в макрофагах чужеродных микроорганизмов вызывает активацию лизосомальных гидролаз и выход энзимов в цитоплазму.

При изучении влияния промышленных микроорганизмов (бактерии, актиномицеты, дрожжеподобные грибы *Candida*) на количественные и качественные показатели состояния альвеолярных макрофагов установлено, что общая картина реакции неспецифической защиты при ингаляционном поступлении строго подчиняется зависимости концентрация/доза – эффект.

Исследованиями Н.П. Сергеюк проведено сравнение информативности тестов при оценке сенсибилизирующих свойств различных промышленных микроорганизмов. Были определены минимально эффективные уровни сенсибилизирующего действия штаммов-продуцентов по разным тестам: показатель повреждения нейтрофилов (ППН), реакция специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ) и реакция торможения миграции макрофагов (РТММ). При сравнении выраженности эффектов установлено, что наиболее чувствительным оказался тест РСАЛ. Как правило, результаты РТММ соответствовали данным по тесту РСАЛ, а положительные результаты теста ППН были выявлены на более высоких уровнях воздействия биотехнологических штаммов.

Наряду с тем, что принципиальные подходы к проблеме биобезопасности промышленных микроорганизмов были определены, многие аспекты этой проблемы остаются еще не изученными на сегодняшний день: отсутствует классификация промышленных микроорганизмов по степени опасности, которая гармонично учитывала бы международные рекомендации, не выявлены

приоритетные микроорганизмы, в методическом плане не выделены наиболее информативные показатели оценки вредного действия биотехнологических штаммов и, наконец, не разработаны подходы к оценке риска воздействия биологического фактора на здоровье человека.

С учетом прежних научных достижений нами была продолжена исследовательская работа по оценке характера вредного воздействия более 30 новых биотехнологических штаммов, принадлежащих к различным таксономическим группам (бактерии, актиномицеты, микроскопические грибы) (табл.1).

При однократном внутрибрюшинном введении высоких доз биотехнологических штаммов была изучена потенциальная патогенность по таким

показателям как вирулентность, токсигенность, определение скорости проникновения в кровь, а также диссеминация штамма в кровь и внутренние органы.

При длительном ингаляционном воздействии биотехнологических штаммов были изучены общетоксическое действие (динамика массы тела, анализ состава периферической крови, показатели функционального состояния нервной системы, почек, печени) и специфические показатели взаимодействия «микроорганизм – макроорганизм» – раздражающее и дисбиотическое действие, иммунотоксичность и диссеминация во внутренние органы.

Оценка иммунотропной активности штаммов-продуцентов включала количественное изу-

Таблица 1

Изученные штаммы микроорганизмов, их биотехнологическая активность и гигиенический норматив

Штамм	Биотехнологическая активность	Величина гигиенического норматива (ПДК) в воздухе рабочей зоны
<u>1. Грамположительные бактерии</u> Bacillus subtilis 65 Bacillus subtilis 72 Bacillus subtilis 103 Bacillus licheniformis 1001 Bacillus licheniformis 60 Bacillus licheniformis 103_	Продуцент нейтральной протеиназы и амилазы Продуцент щелочной протеазы Продуцент нейтральной протеазы Продуцент бацитрацина Продуцент комплекса амилитических и протеолитических ферментов Продуцент α -амилазы	40 000 А 50 000 50 000 50 000 А 50 000 А 50 000 А
<u>2. Грамотрицательные бактерии</u> Alcaligenes denitrificans C-32 Pseudomonas caryophyllii 102/1	Продуцент нитриказы Деструктор стирола	4 000 А 5 000 А
<u>3. Нокардиоформные актиномицеты</u> Rhodococcus corallinus Rhodococcus erythropolis	Деструкторы углеводов нефти и нефтепродуктов	50 000 50 000
<u>4. Микромицеты</u> Candida tropicalis Y-456 Aspergillus terreus 44-62 Aspergillus awamori 120/177 Aspergillus awamori Nakazawa ВУД Т-2 Penicillium funiculosum F-149 Penicillium funiculosum 18.2 Penicillium canescens PIPh 33 Trichoderma viride 44-11-62/3	Продуцент ксилита Продуцент ловастатина Продуцент глюкоамилазы Продуцент глюкоамилазы Продуцент декстраназы Продуцент комплекса карбогидраз Продуцент пектинлиазы и фитазы Продуцент комплекса целлюлолитических ферментов	300 А 300 А 2 000 А 2 000 А 2 000 А 2 000 А 2 000 А 2 000 А

Примечание: А - штаммы-продуценты, нормированные по сенсibiliзирующему эффекту

чение показателей клеточного звена иммунной системы (Т- и В-лимфоциты), антигенности, иммуномодулирующего и сенсибилизирующего эффектов. Для оценки дисбиотического эффекта была использована качественная и количественная характеристика аутомикрофлоры кишечника (*E.coli* и другие энтеробактерии, энтерококки, бифидо- и лактобактерии, дрожжеподобные грибы *Candida*).

Наши многолетние исследования показали, что специфическими показателями вредного действия промышленных микроорганизмов при ингаляционном и энтеральном пути введения являются иммуностропный и дисбиотический эффекты, проявление которых зависит от таксономической характеристики биотехнологических штаммов, а выраженности эффектов – от воздействующей концентрации/дозы [8-11].

Было показано, что длительное воздействие большинства штаммов микроорганизмов родов *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Pseudomonas* и др. приводило к изменению баланса иммунокомпетентных клеток в сторону снижения Т- и увеличения В-лимфоцитов, при этом наиболее информативным показателем явилось соотношение иммунокомпетентных клеток (Т/В-лимфоцитов) [12-14].

Вместе с тем, в периферической крови экспериментальных животных наблюдалось значительное увеличение эозинофилов, которое служит признаком аллергеноопасности штаммов, хотя не исключается непосредственное участие

эозинофилов в сенсибилизации организма, опосредованное через Fc – рецепторы этих клеток к IgE.

При этом происходило формирование гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ), опосредованной антителами-реагинами, которая определялась нами в реакции прямой дегрануляции перитонеальных тучных клеток.

Показано, что ингаляция промышленных микроорганизмов родов *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* и др., обладающих сенсибилизирующими свойствами, вызывала значимые изменения секреторной активности тучноклеточной популяции в сторону увеличения числа дегранулированных форм (рис.1).

Наряду с этим было отмечено формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), опосредованной Т-лимфоцитами.

Регрессионный анализ наиболее информативных показателей иммуностропной активности (Т- и В-лимфоциты, соотношение Т/В, показатели ГЗТ и ГНТ) изученных биотехнологических штаммов, принадлежащих к различным таксономическим группам, выявил статистически значимую связь между показателем дегрануляции тучных клеток и соотношением Т/В-лимфоцитов (рис.2). Данные регрессионного анализа возможно использовать при прогнозировании иммуностропных свойств новых штаммов-продуцентов с учетом их таксономической характеристики.

Дисбаланс микроэкологии кишечника при длительном воздействии

выражался в изменении концентрации и частоты высеваемости *E.coli* и других представителей условно-патогенной микрофлоры, а также в снижении содержания бифидобактерий и лактобацилл, поддерживающих гомеостаз микроэкологии кишечника (табл.2). Наиболее опасным в плане развития дисбактериоза кишечника являются грамотрицательные бактерии (*Pseudomonas*) и микроскопические, включая дрожжеподобные, грибы (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*) [15,16].

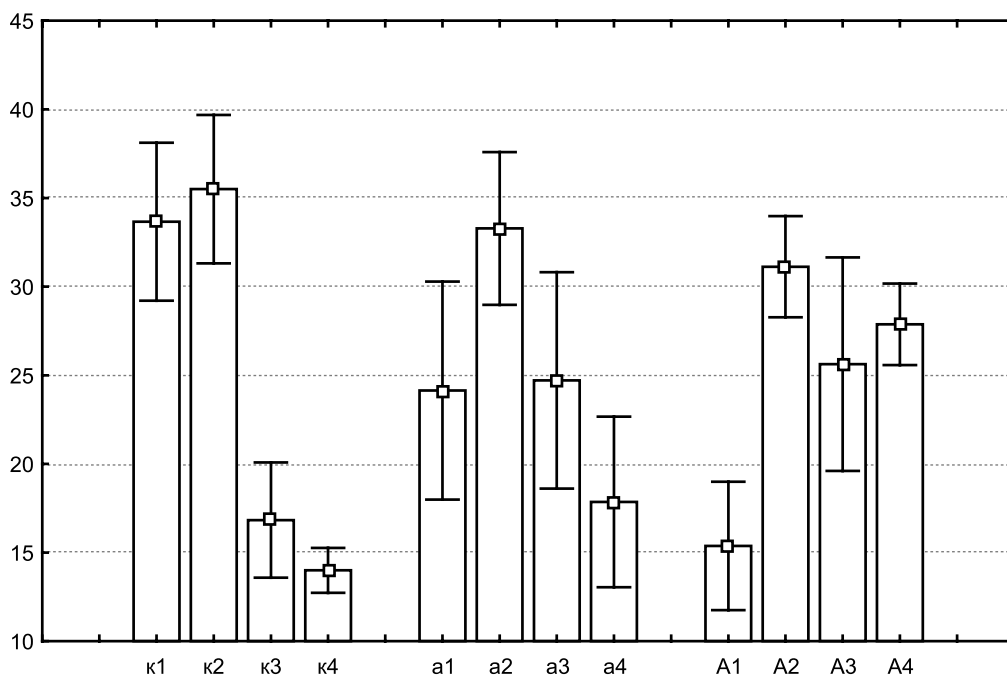


Рис.1. Фазы секреторного цикла тучноклеточной популяции при ингаляции промышленных микроорганизмов. По оси х: к – контроль, а – *A.denitrificans* 4x10⁴, А – *A.denitrificans* 4x10⁵ кл/м³. 1,2, 3, 4 – фазы секреции тучных клеток. По оси у – % тучных клеток

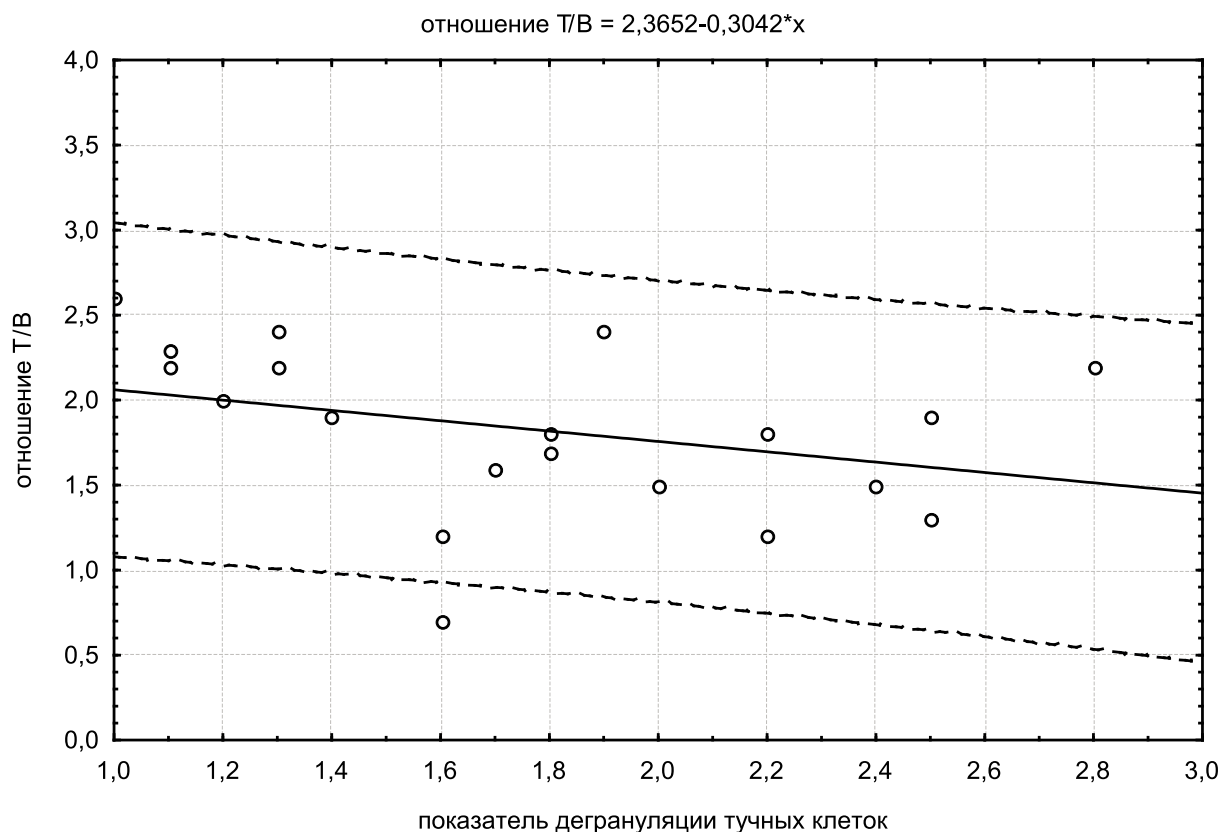


Рис.2. Связь между показателем дегрануляции тучных клеток и соотношением T/B-лимфоцитов при ингаляционном воздействии биотехнологических штаммов на минимально эффективных уровнях в зависимости от их таксономической характеристики

Таблица 2

Характеристика микробиологических изменений кишечника животных при воздействии биотехнологических штаммов

Группа промышленных микроорганизмов	Минимально эффективные уровни воздействия, кл/м ³	Степень выраженности микробиологических изменений (дисбактериоз)	Ассоциации измененной микрофлоры
Дрожжеподобные грибы Candida	10 ³ -10 ⁴	Выраженный	↓ E.coli, ↑ стафилококки, ↑ стрептококки, ↓ лактобациллы
Микромицеты (Aspergillus, Penicillium)	10 ⁴	Выраженный или умеренно выраженный	↓ E.coli, ↑ энтеробактерии, ↑ стафилококки, ↓ лактобациллы ↓ бифидобактерии
Грамотрицательные бактерии	10 ⁴	Умеренно выраженный (1 степень)	↓ лактозоположительные E.coli, ↑ лактозонегативные E.coli, ↑ энтеробактерии, ↑ стафилококки, ↑ стрептококки
Грамположительные бактерии	10 ⁵	Начальные признаки	↓ E.coli, ↑ энтеробактерии
Нокардиоформные актиномицеты	10 ⁴ -10 ⁷	Отсутствует	нормофлора

Примечание: ↑ – увеличение показателя по сравнению с контролем или физиологической нормой
↓ – снижение показателя по сравнению с контролем или физиологической нормой

Анализ полученных результатов многолетних экспериментальных исследований позволил усовершенствовать программу исследования на основе гигиенически значимых показателей вредного действия промышленных микроорганизмов, разработать классификацию промышленных микроорганизмов и обосновать величины гигиенических нормативов как основной критерий биобезопасности их в объектах окружающей среды.

Мы полагаем, что программа экспериментальных исследований по установлению гигиенических нормативов промышленных микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе в целом определяется их таксономическим положением.

Для представителей родов микроорганизмов *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Rhodococcus* и др., не проявляющих неблагоприятных свойств на высоких уровнях воздействия, рекомендуется групповое (родовое) нормирование на уровне максимально безвредных концентраций, т.е. на уровне 5×10^4 и 5×10^3 кл/м³ в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест соответственно.

Для представителей родов *Bacillus*, *Streptomyces*, *Trichoderma*, обладающих слабо выраженными сенсибилизирующими свойствами, возможно сокращение программы экспериментальных исследований за счет оценки только иммуотропной и сенсибилизирующей активности.

Наиболее аллергеноопасными являются грамотрицательные бактерии родов *Pseudomo-*

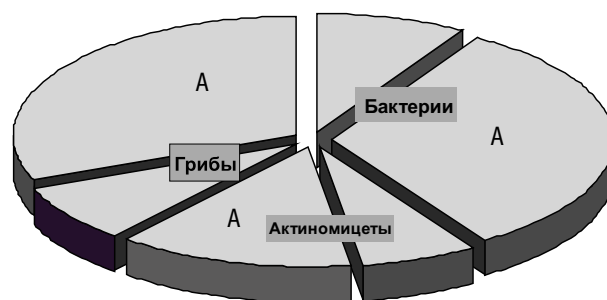


Рис.3. Структура массива (%) промышленных микроорганизмов в зависимости от таксономического положения и лимитирующего показателя вредного действия.

Обозначения: А – микроорганизмы, нормированные по аллергенному эффекту

nas, *Alcaligenes* и микромицеты родов, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, исследования которых необходимо проводить по полной программе, включающей оценку всех неблагоприятных эффектов [17].

Нами разработана и предложена классификация микроорганизмов по степени опасности воздействия на организм. Она включает комплекс гигиенически значимых показателей, характеризующих патогенные свойства микроорганизмов, пороговые концентрации при хроническом ингаляционном воздействии по иммуотропному, сенсибилизирующему и дисбиотическому эффектам, ПДК_{р.з.} и ПДК_{а.в.} (табл.3).

Таблица 3

Гигиеническая классификация микроорганизмов по степени опасности воздействия на организм

показатели	1 класс (особо опасные инфекции)	2 класс (опасные микроорганизмы, возбудители других инфекционных заболеваний)	3 класс (умеренно опасные микроорганизмы)	4 класс (мало опасные микроорганизмы)
Показатели патогенности - пороговая доза, кл/жив.	$\leq 10^7$	$\leq 10^7$	$> 10^7$	$> 10^7$
-минимальная доза высеваания, кл/жив.	$\leq 10^7$	$\leq 10^7$	$> 10^7$	$> 10^7$
-диссеминация в кровь и органы, дни	Диссеминация 1-30 дней		Персистирование 1-15 дней	
ПДК _{р.з.} , кл/м ³	Не рекомендуются к использованию в биотехнологической промышленности		$\leq 5 \times 10^3$	$> 5 \times 10^3$
ПДК _{а.в.} , кл/м ³			$\leq 5 \times 10^2$	$> 5 \times 10^2$
Lim _{ch sens} , кл/м ³			$\leq 5 \times 10^4$	$> 5 \times 10^4$
Lim _{ch imm} , кл/м ³			$\leq 5 \times 10^4$	$> 5 \times 10^4$
Lim _{ch dis} , кл/м ³			$\leq 5 \times 10^5$	$> 5 \times 10^5$

В целом, предложенная классификация находится в гармоничном соответствии с классификацией микроорганизмов по степени риска Европейской Федерации Биотехнологии и OECD (Organization of economical cooperation & development). Согласно последней микроорганизмы, используемые в биотехнологии, подразделяют на 4 класса – безвредные, мало опасные, умеренно опасные и высоко опасные микроорганизмы, причем микроорганизмы 1 и 2 классов опасности не рекомендуются к использованию в биотехнологической промышленности.

В результате длительных и многосторонних исследований, проведенных нами и другими российскими учеными, в настоящее время создан информационный банк данных по оценке токсичности и опасности штаммов-продуцентов. За весь период изучения проблемы биобезопасности микроорганизмов было разработано и законодательно утверждено около 200 ПДК штаммов-продуцентов и микробиологических препаратов на их основе в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест.

Проведенный анализ банка данных о характере вредного действия штаммов-продуцентов показал, что большинство штаммов-продуцентов (около 80 %), принадлежащих к различным таксономическим группам (грибы, бактерии, актиномицеты), обладают аллергенными свойствами. С учетом таксономической характеристики биотехнологических штаммов среди бактерий аллергенными свойствами обладали 75%, среди актиномицетов – 67%, среди грибов – 80 % (рис.3).

Указанное еще раз подчеркивает актуальность обсуждаемой проблемы биобезопасности штаммов, используемых в биотехнологиях, и необходимость их регламентирования в объектах окружающей среды.

Несмотря на определенные научно-практические достижения в области биобезопасности промышленных микроорганизмов, целый ряд вопросов требует дальнейшего изучения. Особенно актуален вопрос о развитии нормативно-правовой базы в области обеспечения

биобезопасности генно-инженерных-модифицированных микроорганизмов (ГММ), которые используются в биотехнологической промышленности Российской Федерации.

Основой нормативной базы Российской Федерации в области контроля генно-инженерной деятельности являются Федеральный закон № 86 от 5.06.1996 г., а также Постановления Правительства РФ № 120 от 16.02.2001 г. [18,19] «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов» и № 26 от 18.01.2002 г. [20] «О государственной регистрации кормов, полученных из генно-инженерно-модифицированных организмов», которые впервые в Российской Федерации вводили государственную регистрацию ГММ. Однако по ряду причин данные Постановления Правительства не привели к созданию эффективной нормативной базы для промышленного использования ГММ.

В настоящее время законодательство РФ не располагает действенными нормативными документами, формулирующими принципы проведения экспертизы биобезопасности ГММ, отсутствуют правила ее проведения, требования к конструированию ГММ, в том числе требования к штамму-реципиенту и вносимому генетическому материалу, а также стандарты обеспечения биобезопасности производства. Вместе с тем, в США и других зарубежных странах существуют полные и подробные правила создания ГММ и их экспертизы при проведении государственной регистрации для использования в биотехнологическом производстве [21].

Мы полагаем, что развитие дальнейших исследований по обеспечению безопасности населения РФ при контакте с промышленными микроорганизмами связано с совершенствованием гигиенического нормирования, развитием методологии оценки риска микробиологического фактора, гармонизацией научных результатов, полученных российскими учеными, с международными рекомендациями и развитием собственной нормативно-правовой базы в отношении ГММ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. № 5789/1-91 от 11 июня 1991 г. М.: МЗ СССР. – 1991. – 22 с.
2. Пивоваров Ю.П., Мялина Л.И., Королик В.В. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. // Методические рекомендации. – М., 1992. – 20 с.
3. Пивоваров Ю.П., Шеина Н.И., Иванов Н.Г. и др. Проблемы и перспективы гигиенического нормирования биотехнологических штаммов микроорганизмов. // Гигиена и санитария. – 2010. – № 5. – с. 9-12
4. Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны. Сборник гигиенических нормативов. Иванов Н.Г., Далин М.В., Сергеюк Н.П., Шеина Н.И. и др. – М., Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007. – 26 с.
5. Рахманин Ю.А., Багдасарьян Г.А., Немыря В.И., Сергеюк Н.П. Принципиальные подходы к нормированию биологических загрязнителей. // Гигиена и санитария. – 2001. – № 1. – С. 12-15
6. Сергеюк Н.П., Супрун И.П., Буянов В.В. Санитарно-эпидемиологическое нормирование промышленных микроорганизмов. – М.: Черноголовка, 2003. – 284 с.
7. Трахтенберг И.М., Тимофеевская Л.А., Квятковская И.Я. Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей – Рига: Зинатне. – 1987. – 172 с.
8. Шеина Н.И. Критерии дисбаланса микробиологии кишечника в системе гигиенического нормирования и оценки риска воздействия промышленных микроорганизмов. // Медицина труда и промышленная экология. – 2007. – № 11. – С. 21-26
9. Шеина Н.И. Токсиколого-гигиеническая оценка биотехнологических штаммов микроорганизмов. // Вест-

ник Российского государственного медицинского университета. – 2007. – №3 (56). – С.66-71

- 10.** *Шейна Н.И.* Гигиенические аспекты изучения характера биологического действия промышленных микроорганизмов. Материалы IV Всероссийского конгресса «Профессия и здоровье», 2005. – С. 164-165.
- 11.** *Шейна Н.И., Буданова Е.В.* Оценка микробиологического дисбаланса кишечника животных при воздействии промышленных микроорганизмов в токсиколого-гигиенических исследованиях. // Токсикологический вестник. - 2005. - №5. - С. 23-27.
- 12.** *Шейна Н.И., Буданова Е.В., Скрябина Э.Г.* и др. Новые сведения о токсичности и опасности химических

- и биологических веществ. Микроорганизм *Penicillium funiculosum* BKM F3668D // Токсикологический вестник. - 2006. - №6. - С. 31-33.
- 13.** *Шейна Н.И., Буданова Е.В., Скрябина Э.Г.* и др. Микроорганизм *Aspergillus awamori* Nakazawa ВУД Т-2 1000-У. // Токсикологический вестник. - 2006. - №6. - С. 33-34.
- 14.** *Шейна Н.И., Жолдакова З.И., Иванов Н.Г.* Проблема гигиенического нормирования биотехнологических штаммов в воде водоемов. // Гигиена и санитария. 2010. – №5. – с.39-42
- 15.** *Шейна Н.И., Скрябина Э.Г., Буданова Е.В.* и др. *Aspergillus terreus* 44-62, штамм-продуцент лавостатина. // Токсикологический вестник. – 2003. – №3. – С. 48-49.

- 16.** *Шейна Н.И., Скрябина Э.Г., Буданова Е.В.* и др. *Candida tropicalis* Y-456, штамм-продуцент ксилита. // Токсикологический вестник. – 2003. – №4. – С. 47-49.
- 17.** *Шейна Н.И., Скрябина Э.Г., Иванов Н.Г.* Сравнительная характеристика иммунотропной активности промышленных микроорганизмов при гигиеническом нормировании. // Токсикологический вестник. – 2005. – №3. – С.12-15.
- 18.** Федеральный закон № 86 от 5.06.1996 «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» (Собрание законодательства Российской Федерации, 1996, N 28, ст. 3348;)
- 19.** Постановление Правительства РФ

- № 120 от 16.02.2001 «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2001, N 9, ст. 860)
- 20.** Постановление Правительства РФ № 26 от 18.01.2002 «О государственной регистрации кормов, полученных из генно-инженерно-модифицированных организмов» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2002, N 4, ст. 323; 2006, N 30, ст. 3389)
- 21.** Скоординированная программа в области регуляции биотехнологии. (Coordinated Framework of the Regulation of Biotechnology) (<http://www.epa.gov/scipoly/biotech/pubs/framework.htm>)

REFERENCES:

- 1.** Guidelines for the experimental justification of MAC microorganisms-producing and containing their formulations of drugs in the production and the environment facilities. № 5789 / 1-91 from 11 June 1991 M.: USSR Ministry of Health. – 1991 – 22p. (in Russian)
- 2.** *Pivovarov Yu.P., Y.P. Mjalina L.I., Korolik V.V.* Assessing Criteria for the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. // Guidelines. – M., 1992. – 20p. (in Russian)
- 3.** *Pivovarov Yu.P., Sheina N.I., Ivanov N.G., et al.* The problems and prospects of hygienic biotechnological strains of microorganisms regulation. // Hygiene and sanitation. – 2010. – № 5. – P. 9-12 (in Russian)
- 4.** Maximum permissible concentration (MPC) of microorganisms-producers, bacterial preparations and their components in the atmosphere air and the air of the working area. Collection. hygienic standards. *Ivanov N.G., Dalin M.V., Sergejuk N.P., Sheina N.I.* et al. – M., Federal Center of Hygiene and Epidemiology, 2007. – 26 p. (in Russian)
- 5.** *Rahmanin Yu.A., Bagdasarjan G.A., Nemyria V.I., Sergejuk N.P.* The principal approaches to the valuation of biological contaminants. // Hygiene and sanitation. – 2001. – №1. – P.12-15 (in Russian)
- 6.** *Sergejuk N.P., Suprun I.P., Buyanov V.V.* Hygienic rationing industrial microorganisms. – M.: Chernogolovka, 2003. – 284 p. (in Russian)
- 7.** *Trachtenberg I.M., Timofeevskaya L.A., Kyatkovskaya I.I.* Methods of study of chronic effects of chemical and biological contaminants – Riga: Zinatne. – 1987. – 172 p. (in Russian)
- 8.** *Sheina N.I.* Imbalance Criteria of microecology intestinal imbalance in the hygiene regulation and risk assessment of industrial microorganisms. // Medicine of work and industrial ecology. – 2007. – № 11. – P.21-26 (in Russian)
- 9.** *Sheina N.I.* Toxicological-hygienic assessment of biotechnological strains of microorganisms. // Bulletin of the Russian State Medical University. – 2007. – №3 (56). – P.66-71 (in Russian)
- 10.** *Sheina N.I.* Hygienic aspects of the study of the nature of the biological effect of industrial microorganisms. Materials IV All-Russian Congress "Profession and Health", 2005. – S. 164-165 (in Russian)
- 11.** *Sheina N.I., Budanova E.V.* Microecological imbalance intestines of animals evaluation under the influence of microorganisms in industrial toxicological and hygienic studies. // Toxicological vestnik. – 2005. – №5. – S. 23-27 (in Russian)
- 12.** *Sheina N.I., Budanova E.V., Scryabina E.G., et al.* The new information on the toxicity and hazards of chemical and biological substances. The microorganism *Penicillium funiculosum* BKM F3668D // Toxicological vestnik. – 2006. – №6. – С. 31-33 (in Russian)
- 13.** *Sheina N.I., Budanova E.V., Scryabina E.G.* et al. microorganism *Aspergillus awamori* Nakazawa WUD T-2 1000-V. // Toxicological vestnik. – 2006. – №6. – P. 33 (in Russian)
- 14.** *Sheina N.I., Zholdakova Z.I., Ivanov N.G.* The problem of hygienic regulation of biotech strains in water reservoirs. // Hygiene and sanitation. – 2010. – №5. – P.39-42 (in Russian)
- 15.** *Sheina N.I., Skryabina E.G., Budanova E.V., et al.* *Aspergillus terreus* 44-62, lavostatina-producing strain. // Toxicological Vestnik. – 2003. – №3. – P. 48-49 (in Russian)
- 16.** *Sheina N.I., Skryabina E.G., Budanova E.V.* et al. *Candida tropicalis* Y-456 producing strain of xylitol. // Toxicological Vestnik. – 2003. – №4. – P. 47-49 (in Russian)
- 17.** *Sheina N.I., Skryabina E.G., Ivanov N.G.* Comparative characteristics of industrial microorganisms immunotropic activity in hygienic rationing. // Toxicological Vestnik. – 2005. – №3. – P.12-15 (in Russian)
- 18.** Federal Law № 86 of 05.06.1996 "On state regulation in the field of genetic engineering" (Collection of legislation of the Russian Federation, 1996, N 28, p. 3348) (in Russian)
- 19.** A coordinated program in the field of regulation of biotechnology (Coordinated Framework of the Regulation of Biotechnology) (<http://www.epa.gov/scipoly/pubs/framework.htm>) (in Russian)
- 20.** Russian Federation Government Resolution № 120 of 16.02.2001 "On state registration of genetically modified organisms" (Collection of legislation of the Russian Federation, 2001, № 9, Art. 860) (in Russian)
- 21.** Russian Federation Government Resolution № 26 dated 18.01.2002 "On state registration of feed derived from genetically modified organisms" (Collection of legislation of the Russian Federation, 2002, № 4, p. 323; 2006, № 30, p. 3389) (in Russian)

N.I. Sheina¹, E.G. Skryabina¹, Yu.P. Pivovarov¹, E.V. Budanova², L.I. Myalina¹, V.V. Korolik¹, V.V. Kolesnikova¹, L.P. Sazonova¹, G.G. Chub¹.

INDUSTRIAL MICROORGANISMS BIOSAFETY PROBLEM IN RUSSIA: PRESENT AND FUTURE

¹N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Ministry of Healthcare, 117997 Moscow, Russian Federation
²I.M. Sechenov Moscow State Medical University, RF Ministry of Healthcare, 119991 Moscow, Russian Federation

An analysis of recent data on the use and evaluation of industrial microorganisms biosafety was conducted. On the basis of our own experimental data from the study of the nature of biotechnological strains harmful effects, a classification of their hazard degrees was proposed; the strains hazard dependency on their taxonomic position was identified. Prospects for studies on problems of microorganisms strains biosafety used in biotechnology are discussed.

Keywords: biosafety, biotechnology strains, allergenicity, immunotrophicity

Переработанный материал поступил в редакцию 20.06.2016 г.

УДК 613.15:614.718

ОБОСНОВАНИЕ МАКСИМАЛЬНОЙ РАЗОВОЙ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛЕТУЧИХ КОМПОНЕНТОВ ВЫБРОСОВ ПРОИЗВОДСТВА ПИЩЕВЫХ АРОМАТИЗАТОРОВ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

О.В. Бударина,
М.А. Пинигин,
Л.А. Федотова,
А.Г. Мальшева

ФБГУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, г. Москва, Российская Федерация

В настоящей работе представлены результаты экспериментальных исследований по обоснованию максимальной разовой предельно допустимой концентрации (ПДК_{м.р.}) летучих компонентов выбросов производства пищевых ароматизаторов (группы: лимонадная, ромовая, цитрусовая, ванильно-сливочная, молочно-сливочная, фруктово-ягодная) в атмосферном воздухе населенных мест на уровне 0,4 мг/м³. Величина была установлена на основе ольфакто-одориметрии с учетом новых подходов недопустимости «навязчивого» запаха как лимитирующего критерия обоснования ПДК_{м.р.} согласно международной практике установления предельных значений на запахах и опыту нормирования пахучих веществ в атмосферном воздухе в нашей стране на протяжении последних лет. Соблюдение установленного значения, которое соответствует уровню, рекомендуемому в зарубежных странах для предприятий производства ароматизаторов и вкусовых добавок, обеспечивает защиту населения от «навязчивого» запаха.

Ключевые слова: максимальная разовая предельно допустимая концентрация, пищевые ароматизаторы, «неопределенный» запах, «навязчивый» запах, ольфакто-одориметрические исследования.

Введение. Ароматизаторы, применяемые в пищевой промышленности, представляют собой растворы натуральных (в основном, различных эфирных масел) и синтетических компонентов в пропиленгликоле, триацетине или этиловом спирте (стандартный ароматизатор включает 10–20 компонентов). Например, ароматизатор «Мандарин», согласно рецептуре, включает 7 компонентов (масло эфирное апельсиновое, масло эфирное лимонное, масло эфирное мандариновое, матилантранилат, спирт бензиловый, цитраль, триацетин); ароматизатор «Дыня» – 19 компонентов (альдегид дециловый, альдегид нонениловый-цис-6, бензальдегид, бензилбензоат, ванилин, гексилацетат, изоамилацетат, изоамилбутират, масло гвоздичное эфирное, масло мандариновое эфирное, масло петигренивое эфирное, мелональ, метилантранилат, спирт нонениловый-цис-6, ундекалактон-гамма, фуранеол, этилбутират, 1,2-пропиленгликоль).

В процессе производства пищевых ароматизаторов по ходу различных этапов технологического процесса (загрузка компонентов согласно рецептуре, перемешивание, фильтрация и розлив) в атмосферный воздух одновременно могут выделяться несколько десятков веществ, обуславливающих специфический запах выбросов производства. Согласно результатам хромато-масс-спектрометрических исследований

Бударина Ольга Викторовна (Budarina Olga Viktorovna), к.м.н., в.н.с. лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФБГУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, Москва, Российская Федерация, vozduch2002@mail.ru

Пинигин Мигмар Александрович (Pinigin Migmar Aleksandrovich), д.м.н., профессор, академик РАЕН, руководитель лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФБГУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, Москва, Российская Федерация, vozduch2002@mail.ru

Федотова Лионелла Айдыновна (Fedotova Lionella Aidynovna), к.м.н., с.н.с. лаборатории гигиены атмосферного воздуха, ФБГУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, Москва, Российская Федерация, fedotov2003@mail.ru

Мальшева Алла Георгиевна (Malysheva Alla Georgievna), д.м.н., профессор, руководитель лаборатория физико-химических исследований ФБГУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, Москва, Российская Федерация, fizhim@yandex.ru

отдельных проб выбросов, выполненных лабораторией физико-химических исследований ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина» Минздрава России, в вентиляционном воздухе от различных технологических процессов при производстве только нескольких видов ароматизаторов могут присутствовать до 40 веществ, относящихся к различным химическим классам (углеводороды, спирты, сложные эфиры, альдегиды, кетоны и др.), причем эти вещества выделяются в атмосферный воздух также в составе сложных смесей. Как показали проведенные органолептические исследования, в районе расположения предприятия по производству пищевых ароматизаторов присутствует характерный запах (лимонадно-сливочно-фруктовый с преобладанием того или иного оттенка в зависимости от производственного задания на данный день).

Поскольку летучие компоненты выбросов производства пищевых ароматизаторов обладают, прежде всего, органолептическим действием, для них устанавливается максимальная разовая предельно допустимая концентрация (ПДК_{м.р.}) с учетом их запаха.

Как известно, ныне установленные максимальные разовые ПДК различных веществ по рефлекторному показателю обуславливают ощущение неопределенного, неспецифического запаха с риском не более 10^{-4} – 10^{-7} [1], что, конечно, является весьма жестким на сегодняшний день требованием, так как вероятность ощущения запаха (или риск ощущения запаха) на уровнях ПДК крайне низка. Вместе с тем, опыт контроля соблюдения ПДК веществ, обладающих запахом, показывает, что даже при отсутствии превышений значений гигиенических нормативов, население может предъявлять жалобы на специфический запах производств. Данное обстоятельство обусловило необходимость пересмотра «неопределенного» запаха как лимитирующего критерия ПДК_{м.р.}, особенно в случаях, когда специфические запахи формируются за счет значительного разнообразия веществ, инструментальный контроль которых крайне затруднителен.

В качестве такого критерия была изучена возможность использования положения В.А. Рязанова о том, что запах в атмосферном воздухе не должен быть «навязчивым» [2]. Этот подход вполне согласуется с системой управления запахом, принятой за рубежом, где запах нормируется по критерию его «раздражающего» действия, что устанавливается на основе проведения эпидемиологических исследований, которые трудоемки и дороги вследствие необходимости привлечения к работе населения [3, 4].

Поэтому, под руководством проф. М.А.Пинигина в Институте им. А.Н.Сысина были разверну-

ты исследования по пересмотру «неопределенного» запаха как лимитирующего критерия ПДК_{м.р.} с разработкой одориметрических критериев недопустимости «навязчивого» запаха в воздухе [5]. В настоящее время в Институте разработан экспериментальный метод обоснования гигиенических нормативов веществ, обладающих запахом, с установлением уровней, предупреждающих появление «навязчивого» запаха у населения [6].

Целью нашей работы явилось обоснование максимальной разовой предельно допустимой концентрации летучих компонентов выбросов производства пищевых ароматизаторов в атмосферном воздухе населенных мест с учетом лимитирующего критерия «навязчивого» запаха.

Материалы и методы исследования. Проведение экспериментальных исследований по обоснованию максимальной разовой предельно допустимой концентрации (ПДК_{м.р.}) летучих компонентов выбросов производства пищевых ароматизаторов в атмосферном воздухе осуществлялось в соответствии с действующими нормативно-методическими документами [6-8] на динамическом ольфактометре ECOMA T08 (производство ECOMA, Emissionsmefitechnik und Consult Mannebeck GmbH, Германия).

Практика показала, что в натуральных условиях крайне трудно отобрать для нормирования образцы выбросов производства только тех ароматизаторов, которые являются наиболее ходовыми в производстве и опасными в отношении запаха; кроме этого, в выбросах производства могут присутствовать вещества, поступающие из мотора вентилятора. Поэтому, для обоснования максимальной разовой предельно допустимой концентрации (ПДК_{м.р.}) летучих компонентов выбросов производства пищевых ароматизаторов в атмосферном воздухе было решено выбрать наиболее приоритетные (как по объемам производства, так и по органолептическим свойствам) ароматизаторы, относящиеся к различным группам, и составить из них искусственную смесь, соблюдение норматива для которой обеспечило бы отсутствие неблагоприятного воздействия запаха на население.

В результате предварительной экспертно-органолептической оценки 46-ти видов готовой продукции (жидких ароматизаторов) и ольфакто-одориметрической оценки отдельных видов ароматизаторов была составлена смесь из 6-ти ароматизаторов («Дюшес», «Ром», «Ванильно-сливочный», «Молоко топленое», «Вишня», «Лимон»), представляющих различные группы, являющихся наиболее ходовыми и приоритетными в производстве и обладающих наибольшей интенсивностью запаха. Полученная смесь ароматизаторов в количестве 3,6 мкл микрошприцем была введена в мешок из налофана (объемом 10 л),

заполненный чистым воздухом, для дальнейшего физико-химического исследования и ольфакто-одориметрической оценки.

В ходе эксперимента по ольфакто-одориметрической оценке испытуемым, отобранным по их чувствительности к запаху эталонного вещества согласно [8], предъявлялась серия из 10 концентраций (разведений) указанной смеси, при этом с каждым ощущением запаха испытуемыми должна быть нажата кнопка «да, есть запах», одновременно ими велась запись об интенсивности ощущаемого запаха (по 6-ти балльной шкале). Общее количество ольфакто-одориметрических определений (включая исследования по отбору ароматизаторов) составило 3020.

Физико-химическое исследование воздушной среды мешка осуществлялось хромато-масс-спектрометрическим методом с использованием метрологически аттестованного оборудования: хромато-масс-спектрометра ЛКБ-2091 и хромато-масс-спектрометра FOCUS GC-DSQ-II в соответствии с действующими методическими указаниями [9].

Результаты и обсуждение. Результаты хромато-масс-спектрометрических исследований воздушной среды мешка со смесью ароматизаторов представлены в таблице 1.

Как показали исследования, в воздушной среде мешка со смесью ароматизаторов всего было обнаружено 11 веществ, при общем их содержании 114,24 мг/м³. В весовом отношении наибольший

вклад в суммарную концентрацию веществ вносит 1,2-пропиленгликоль, на долю которого приходится больше половины (около 60%) массы всех веществ; на сложные эфиры приходится около 20% массы всех идентифицированных веществ (в т.ч. на изоамилацетаты – 14%).

Перед проведением ольфакто-одориметрических исследований смеси ароматизаторов, вся группа испытуемых была ознакомлена с ее запахом. Испытуемые охарактеризовали запах указанной смеси как легкий сливочно-фруктовый, переходящий в сладкий, приторный с примесью лимонада.

Результаты ольфакто-одориметрических исследований зависимости вероятности ощущения запаха разной силы от его концентрации, выраженной в мг/м³ и в единицах запаха представлены в таблице 2.

Ольфакто-одориметрические исследования показали, что с увеличением концентрации представленной смеси ароматизаторов в воздухе возрастает как вероятность ощущения «неопределенного» запаха (силой 1 балл), так и вероятность ощущения запаха разной силы – специфического (силой 2 балла) и «навязчивого» (силой 3 балла), что выражается на пробитной (вероятностной) сетке в виде прямых с углами наклона 44°, 23° и 23° соответственно.

Как видно из таблицы 2, запах смеси может выражаться как в концентрации веществ, так и в единицах вероятности его ощущения и в едини-

Таблица 1

Органические соединения, обнаруженные в воздушной среде мешка со смесью жидких ароматизаторов

№№	Соединение	Концентрация, мг/м ³
Углеводороды		
1.	Лимонен	5,00
2.	α-Пинен	4,7
Кислородсодержащие соединения, в том числе		
Спирты		
3.	Ментол	7,8
4.	Линалоол	1,47
5.	1,2-Пропиленгликоль	68,5
Альдегиды		
6.	Бензальдегид	1,8
7.	Ванилин	0,78
Кетоны		
8.	Ментон	1,78
Сложные эфиры		
9.	Этилбутират	3,3
10.	2- и 3-Метилбутилацетаты (изоамилацетаты)	15,6
11.	Триацетин (триацетат глицерина)	3,51

цах запаха¹, принятых в Европе при установлении стандартов и характеризующих запах в целом.

Согласно разработанным в ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им.А.Н.Сысина» Минздрава России методическим подходам по гигиеническому обоснованию предельно-допустимого содержания веществ в атмосферном воздухе с учетом их запаха [6], гармонизированным с зарубежной методологией установления рекомендуемых величин на запах [10], предельным (нормативным) уровнем запаха в атмосфере населенных мест считается такой уровень, который вызывает «раздражение» не более чем у 10% населения, т.е. у его наиболее чувствительной части. При этом устанавливаемый уровень не должен быть превышен более, чем в 2% случаев.

В соответствии с графическим анализом, концентрация смеси ароматизаторов, соответствующая 10%-ной вероятности ощущения запаха силой 3 балла, составляет 0,42 мг/м³ (или 6 ЕЗ/м³). Указанная величина соответствует рекомендуемой за рубежом величине (6 ЕЕЗ как 98% от средних часовых значений концентрации в течение года) в атмосферном воздухе для производства

ароматизаторов и вкусовых добавок, установленным на основе эпидемиологических исследований, который не вызовет существенного «раздражения» населения [10].

Характеристика параметров прямых зависимости вероятности ощущения запаха разной силы от концентрации смеси ароматизаторов и пороговые концентрации различной вероятности их обнаружения представлены в таблице 3.

Таким образом, в результате проведенных ольфакто-одориметрических исследований, в качестве максимальной разовой предельно допустимой концентрации (ПДК_{м.р.}) летучих компонентов выбросов производства пищевых ароматизаторов (группы: лимонадная, ромовая, цитрусовая, ванильно-сливочная, молочно-сливочная, фруктово-ягодная) в атмосферном воздухе населенных мест может быть рекомендована суммарная величина 0,4 мг/м³, гармонизированная с рекомендуемой в зарубежных странах для предприятий указанной отрасли промышленности, которая обеспечивает защиту населения от «навязчивого» запаха.

Таблица 2

Зависимость вероятности ощущения запаха смеси ароматизаторов разной силы от концентрации

Суммарная концентрация веществ, обуславливающих запах выбросов		Вероятность ощущения запаха разной силы		
мг/м ³	ЕЗ/м ³	«неопределенный»	запах силой 2 балла («специфический»)	запах силой 3 балла («навязчивый»)
0,07	1	50%	6%	0,5%
0,11	1,5	75%	10%	1%
0,14	2	87%	15%	2%
0,21	3	96%	22%	4%
0,28	4	99%	30%	6%
0,35	5	99,5%	35%	8%
0,42	6	99,7%	40%	10%
0,49	7	99,95%	47%	12%
0,56	8	99,97%	50%	15%

Таблица 3

Характеристика параметров прямых «lg концентрации – вероятность ощущения запаха разной силы» для смеси пищевых ароматизаторов

Углы наклона прямых зависимости «концентрация – вероятность ощущения запаха»			Концентрация, соответствующая 50%-ному порогу запаха		Допустимая вероятность ощущения запаха силой 3 балла	Рекомендуемая ПДК м.р.
«неопределенного»	«специфического»	«навязчивого»	«неопределенного»	«специфического»		
44°	23°	23°	0,07 мг/м ³ (1 ЕЗ/м ³)	0,56 мг/м ³ (8 ЕЗ/м ³)	10%	0,4 мг/м ³ (6 ЕЗ/м ³)

¹ Европейская единица запаха или единица запаха (ЕЗ/м³) – масса вещества в 1 м³ нейтрального газа (чистого воздуха), запах которой определяется в лабораторных условиях 50% испытуемых и эквивалентна 123 мкг п-бутанола в 1 м³ чистого воздуха.

Заключение. На основании исследований, проведенных в соответствии с [6-8], в качестве гигиенического норматива в атмосферном воздухе населенных мест была рекомендована:

- максимальная разовая предельно допустимая концентрация (ПДК_{м.р.}) летучих компонентов выбросов производства пищевых ароматизаторов (группы: лимонадная, ромовая, цитрусовая, ванильно-сливочная, молочно-сливочная, фруктово-ягодная) – 0,4 мг/м³. Лимитирующий показатель вредности – рефлекторный, класс опасности – 4. Норматив был утвержден Постановлением Главного государственного санитарного

врача Российской Федерации от 27 ноября 2014 г. №76 г.Москва «О внесении изменений в ГН 2.1.6.1338-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест».

Для контроля содержания летучих компонентов выбросов производства пищевых ароматизаторов в атмосферном воздухе разработаны методические указания «Хромато-масс-спектрометрическое определение в атмосферном воздухе летучих компонентов пищевых ароматизаторов в процессе их производства» (МУК 4.1.3141-13. -М., 2014).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pinigin M.A., Tepikina L.A., Budarina O.V. The problem of Odour in the Air and How to Solve it in Russia. //Environmental Odour Management/ International Conference, Cologne, 17 to 19 November 2004. -P. 563-567.
2. Рязанов В.А. Санитарная охрана атмосферного воздуха. М.: 1954.
3. Ван Харрефельд Т. К вопросу об управлении запахом на территории Европейского Союза //Международная конференция «Актуальные вопросы оценки и регулирования запаха». Сборник докладов. ЗАО «Лиггетт-Дукат». – Москва, 4 октября 2006г. – с. 13-29.
4. Winneke G., Sucker K., Both R. Population Odour Annoyance is Influenced by the Hedonic Quality of Industrial Odours // Environmental Odour Management, International Conference, Cologne, 17 – 19 November 2004. – P. 9 – 12.
5. Пинигин М.А. Гигиеническое нормирование и контроль атмосферных загрязнений в России с учетом запаха, а также пути гармонизации в этой области. // Международная конференция «Актуальные вопросы оценки и регулирования запаха». Сборник докладов. ЗАО «Лиггетт-Дукат». – Москва, 4 октября 2006г. – с. 30-40.

REFERENCES:

1. Pinigin M.A., Tepikina L.A., Budarina O.V. The problem of Odour in the Air and How to Solve it in Russia. //Environmental Odour Management/ International Conference, Cologne, 17 to 19 November 20-P. 563-567.
2. Ryzanov V.A. Sanitarnaya okhrana atmosferego vozdukh. M.: 1954.
3. Van Kharrevel'd T. K voprosu ob upravlenii zapakhom na territorii Evropeyskogo Soyuza // Mezhdunarodnaya konferentsiya «Aktual'nye voprosy otsenki i regulirovaniya zapakha». Sbornik dokladov. ZAO «Liggett-Dukat». – Moskva, 4 oktyabrya 2006g. – p. 13-29.
4. Winneke G., Sucker K., Both R. Population Odour Annoyance is Influenced by the Hedonic Quality of Industrial Odours // Environmental Odour Management, International Conference, Cologne, 17 – 19 November 2004. – P. 9 – 12.
5. Pinigin M.A. Gigenicheskoe nomirovanie i kontrol' atmosferykh zagryazneniy v Rossii s uchedom zapakha, a takzhe puti garmonizatsii v etoy oblasti. //Mezhdunarodnaya konferentsiya «Aktual'nye voprosy otsenki i regulirovaniya zapakha». Sbornik dokladov. ZAO «Liggett-Dukat». – Moskva, 4 oktyabrya 2006g. – p. 30-
6. Gigenicheskoe obosnovanie predel'no-dopustimogo soderzhaniya veshchestv v atmosferego vozdukh s uchedom ikh zapakha. //Metodicheskie rekomendatsii. Utverzhdeny Predsedatelem nauchnogo soveta Rossiyskoy Federatsii po ekologii cheloveka i gijene okruzhayushchey sredy akademikom RAMN Yu.A. Rakhmaninym. M.; 2011.

6. Гигиеническое обоснование предельно-допустимого содержания веществ в атмосферном воздухе с учетом их запаха. // Методические рекомендации. Утверждены Председателем научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды академиком РАМН Ю.А. Рахманиным. М.; 2011.
7. Временные методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест, №4681-88, МЗ СССР, М.; 1989.
8. Air quality – Determination of odour concentration by dynamic olfactometry. European standard EN 13725. European committee for standardization; 2003.
9. Методические указания по хромато-масс-спектрометрическому определению летучих органических веществ в атмосферном воздухе. МУК 4.1.618-96. //Определение концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе. Сборник методических указаний. -М., 1997. – с.217-228.
10. Assessment of Community Response to Odorous Emissions. R&D Technical Report P4-095/TR: Environment Agency; 2002.

9. Методические указания по хромато-масс-спектрометрическому определению летучих органических веществ в атмосферном воздухе. МУК 4.1.618-96. //Определение концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе. Сборник методических указаний. -М., 1997. – с.217-228.
10. Assessment of Community Response to Odorous Emissions. R&D Technical Report P4-095/TR: Environment Agency; 2002.

7. Временные методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест, №4681-88, МЗ СССР, М.; 1989.
8. Air quality – Determination of odour concentration by dynamic olfactometry. European standard EN 13725. European committee for standardization; 2003.
9. Методические указания по хромато-масс-спектрометрическому определению летучих органических веществ в атмосферном воздухе. МУК 4.1.618-96. //Определение концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе. Сборник методических указаний. -М., 1997. – с.217-228.
10. Assessment of Community Response to Odorous Emissions. R&D Technical Report P4-095/TR: Environment Agency; 2002.

10. Assessment of Community Response to Odorous Emissions. R&D Technical Report P4-095/TR: Environment Agency; 2002.

O.V. Budarina, M.A. Pinigin, L.A. Fedotova, A.G. Malysheva

SUBSTANTIATION OF MAXIMUM SINGLE ALLOWABLE CONCENTRATION OF FOOD FLAVORS VOLATILE COMPONENTS IN THE RESIDENTIAL AREAS ATMOSPHERIC AIR.

A.N. Sysin «Research Institute of Human Ecology and Environmental Health», Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 119121, Moscow, Russian Federation

The paper presents results of experimental studies on substantiation of maximum single allowable concentration (MAC_{maximum single}) of food flavors volatile components (groups: lemonade, rum, citrus, vanilla-creamy, milk-creamy, fruit and berry) in the residential areas atmospheric air at 0.4 mg/m³ level. The value was set based on olfactory-odorimetry with consideration of new approaches to inadmissibility of «obsessive» odor as limiting criterion for substantiation of MAC_{maximum single} according to international practice of setting odor limits and to the domestic experience in standardization of allowable odor limits and regulation of odorous substances in the atmospheric air over recent years. Meeting established values, which correspond to levels recommended in foreign countries for production of flavors and flavorings protects the population from «obsessive» odor.

Keywords: MAC_{maximum single}, food flavorings, «unspecified» odor, «obsessive» odor, olfactory-odorimetry.

Материал поступил в редакцию 31.03.2016 г.

УДК 615.9 : 599.323.4

ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ ВИНИЛХЛОРИДА НА БЕЛЫХ КРЫС

О.М. Журба, Е.А. Капустина

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт
медико-биологических исследований»
(ФГБНУ ВСИМЭИ), 665827, г. Ангарск,
Российская Федерация

В работе представлены экспериментальные данные о влиянии метаболитов винилхлорида на поведение белых крыс и результаты о количественном содержании в биологических средах животных, подвергшихся воздействию ксенобиотиков. Особи, разделенные на группы получали внутривенно инъекции хлорэтанола (ХЭ) в концентрации 20 мг/кг, монохлоруксусной кислоты (МХУК) в концентрации 10 мг/кг, животные контрольной группы - дистиллированную воду. Общая продолжительность воздействия ксенобиотиков составила 2 недели. Животных обследовали в тесте «Крестообразный лабиринт» и в тесте «Открытое поле». Для измерений концентраций метаболитов в биологических образцах использовали методы газовой хроматографии с электронно-захватным (ЭЗД) и масс-селективным детектированием (ГХ-МС). Выявлено, что воздействие хлорэтанола и монохлоруксусной кислоты, оказало влияние на поведение экспериментальных животных. Воздействие хлорэтанола способствовало развитию тревожности и повышенному уровню исследовательской активности у опытных животных. Интоксикация монохлоруксусной кислоты также способствовала более выраженному исследовательскому поведению наряду с возбужденным (ажитированным). У особей, экспонированных ХЭ, через час после прекращения последнего введения, выявлено присутствие данного соединения в крови. Однако уже через 2 часа после экспозиции концентрация ХЭ снизилась в 13 раз. В группе контрольных особей хлорэтанол в крови не обнаружен.

В двух экспериментальных группах, как и в контроле, наличие МХУК не обнаружено. Содержание тиодиуксусной кислоты значимо отличалось от контрольных значений.

Ключевые слова: экспериментальные исследования, винилхлорид, метаболиты винилхлорида, газовая хроматография, поведение белых крыс.

Введение. Винилхлорид (хлористый винил, хлорэтен) широко применяется в производстве суспензионного поливинилхлорида. Винилхлорид (ВХ) и 1,2-дихлорэтан (ДХЭ) являются основными хлорорганическими соединениями в воздухе рабочей зоны в производстве поливинилхлорида. Основной путь воздействия ВХ – ингаляционный. В организме винилхлорид быстро метаболизируется в печени с помощью цитохрома Р-450 с образованием промежуточных продуктов, например, хлорэтанола (ХЭ) [1]. Следует отметить, что практически весь поступивший в организм винилхлорид подвергается окислению. Монохлоруксусная кислота в организме теплокровных животных, отравленных 1,2-дихлорэтаном и винилхлоридом, образует-

ся из хлорэтанола. Это косвенно подтверждается и тем, что в моче мышей, отравленных хлорэтанолом, также обнаруживаются монохлоруксусная и тиодигликолевая кислоты [2].

Тиодиуксусная кислота (ТДУК) является основным метаболитом винилхлорида, обнаруживаемым в моче человека [3]. Cheng T.G. с соавторами, установили, что содержание данного метаболита наиболее информативно определять в начале следующей смены рабочей смены, установили что ТДУК может служить маркером для выявления факта воздействия ВХ [4].

Известно негативное влияние ВХ практически на все системы и органы человека и риск воздействия данного ксенобиотика суще-

Журба Ольга Михайловна (Zhurba Olga Mikhailovna), к.б.н., руководитель лабораторией аналитической экотоксикологии и биомониторинга ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, г. Ангарск, Российская Федерация, labchem99@gmail.com

Капустина Екатерина Александровна (Kapistina Ekaterina Aleksandrovna), к.м.н., научный сотрудник лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, г. Ангарск, Российская Федерация tox_lab@mail.ru

ствуется не только у работников химической промышленности, но и в быту [5]. Так, описан непрямой контакт с токсикантом через загрязненный воздух вблизи предприятий и мест расположения свалок отходов; употребления загрязненной воды, продуктов питания, медикаментов, упакованных в поливинилхлоридную пленку. Кроме этого, винилхлорид присутствует в табачном дыме, образуется в грунтовых водах как продукт микробной жизнедеятельности при метаболизме три- и перхлорэтилена [6]. Учитывая факт контакта работающих в производстве и населения с винилхлоридом, является актуальным изучение влияния метаболитов на организм контактирующих и выявление маркеров воздействия винилхлорида.

Цель данного исследования – изучение воздействия метаболитов винилхлорида на поведение белых крыс и их количественное определение содержания в биологических средах экспериментальных животных, подвергшихся воздействию ксенобиотиков.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное моделирование интоксикации метаболитами винилхлорида проводили на 90 белых беспородных крысах-самцах половозрелого возраста, массой 200-220 г, содержащихся в условиях вивария ФГБНУ ВСИМЭИ. Предварительно по методу «открытое поле» оценивали ориентировочно-двигательную активность животных, исключая из опыта белых крыс с пассивным типом поведения [8]. Животных разделили на три группы: особи первой группы получали инъекции хлорэтанола (ХЭ) в концентрации 20 мг/кг, белым крысам второй группы вводили монохлоруксусную кислоту (МХУК) в концентрации 10 мг/кг, животные третьей группы получали дистиллированную воду и служили контролем. Инъекции осуществлялись внутривенно. Общая продолжительность воздействия ксенобиотиков составила 2 недели, исключая выходные дни.

Экспериментальных животных содержали в стандартных условиях вивария, с соблюдением принципов, изложенных в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (Страсбург, Франция, 1986). Питание, уход за животными и выведение из эксперимента осуществлялось в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (приказ МЗСР РФ № 708н от 23.08.2010 г.).

Обследование животных проводили после окончания воздействия токсикантами. Для характеристики функций ЦНС использовали тесты «Открытое поле» и «Крестообразный лабиринт» [9].

Определение содержания метаболитов в крови и моче проводилось по следующей схеме: у особей, подвергавшихся воздействию ХЭ, определяли содержание ХЭ в крови через 1 ч и 2 ч после окончания воздействия, а также содержание МХУК и ТДУК в моче, у животных с интоксикацией МХУК определяли содержание МХУК и ТДГК в моче, помещая крыс в метаболические кюветы для сбора биоматериала.

Определение метаболитов винилхлорида в биосредах проводили методами газовой хроматографии с электронно-захватным (ЭЗД) и масс-селективным детектированием (ГХ-МС) [10–12]. При определении 2-хлорэтанола в крови использовали жидкостно-жидкостную экстракцию, являющуюся одним из традиционных методов разделения и концентрирования.

Газохроматографическое определение МХУК и ТДУК, содержащих в своих молекулах карбоксильные группы с активными атомами водорода, требует получения их летучих производных, что усложняет подготовку пробы и газохроматографический анализ. Для выявления данных метаболитов в моче проводили этерификацию кислот метиловым спиртом, содержащий 10% трифторида бора, в диметилэфир ТДУК и метиловый эфир МХУК, затем экстрагировали эфиры методом жидкостной экстракцией этилацетатом и далее анализировали методами газовой хроматографии [10–12].

Используемое оборудование: Газовый хроматограф Agilent 7890А с вводом split/splitless в капиллярные колонки с электронно-захватным детектором (ЭЗД). Автосамплер жидкостный Agilent 7693, позволяющий регулировать глубину погружения микрошприца в виалу. Хромато-масс-спектрометр состоящий из газового хроматографа Agilent 7890 с капиллярной колонкой HP-5ms (30 м, 0.25 мм, 0.25 мкм) и одноквадрупольного масс-селективного детектора Agilent 5975 с электронно-ударной ионизацией. Реактивы и стандарты: 2-хлорэтанол (Fluka), монохлоруксусная кислота (Aldrich), тиодиуксусная кислота (98 % масс., Aldrich), диметилэфир ТДУК (синтезирован Иркутским институтом химии им. А. Е. Фаворского СО РАН Pat. US 7.642.371 B2, USA, 560/154), этилацетат (о.с.ч.), растворы трифторида бора (10% масс.) и серной кислоты (30% масс.) в метаноле.

Полученные материалы исследований обрабатывали с использованием U-критерия Манна-Уитни с применением пакета прикладных программ «STATISTICA 6.1» (StatSoft). Отли-

чия считали статистически значимыми при значении критерия $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона.

Результаты и обсуждение.

Характеристика поведенческой активности белых крыс. Анализ результатов исследования поведения белых крыс, подвергавшихся воздействию ХЭ и МХУК, в тесте «Крестообразный лабиринт» показал, что активность животных опытных групп имела отличия от контроля (табл. 1).

Так, особи с интоксикацией ХЭ начинали обследование лабиринта позднее, чем контрольные. Данный факт может свидетельствовать о более низкой скорости принятия решений в связи с повышенным уровнем тревожности опытных животных. Также выявлено, что крысы подвергавшиеся воздействию МХУК, осуществляли обход всех отсеков лабиринта статистически значимо быстрее, чем контрольные. В то же время количество диаметральных переходов у опытных животных было значимо выше, чем в контроле. Данные факты свидетельствуют о возбужденном состоянии животных.

При изучении результатов обследования животных в открытом поле статистически значимые отличия выявлены среди проявлений исследовательского поведения. Так, количество вертикальных стоек было значимо выше как в группе ХЭ – 2 (1-3), так и МХУК – 2 (1-5) при сравнении с контролем – 0 (0-2).

Таким образом, выявлено, что воздействие ХЭ и МХУК, являющихся продуктами трансформации винилхлорида, оказало воздей-

ствие на поведение экспериментальных животных. Воздействие ХЭ способствовало развитию тревожности и повышенному уровню исследовательской активности у опытных животных. Интоксикация МХУК также способствовала более выраженному исследовательскому поведению наряду с возбужденным (ажиотированным) состоянием.

Количественное определение метаболитов в биологических средах белых крыс. Содержание метаболитов и введенных веществ отображено в таблице 2.

У особей, экспонированных ХЭ, через час после прекращения последнего введения выявлено присутствие данного соединения в крови. Однако уже через 2 часа после экспозиции концентрация ХЭ снизилась в 13 раз. В группе контрольных особей хлорэтанол в крови не обнаружен.

В двух экспериментальных группах, как и в контроле, не обнаружено присутствие МХУК. Содержание ТДУК значимо отличалось от контрольных значений.

На рисунке 1 приведены наложенные масс-хроматограммы образца пробы мочи контрольного $C = 14$ мкг/см³ и опытного животного $C = 87$ мкг/см³. Разделение пиков удовлетворительное, этилацетат, метанол, примеси в органических растворителях, сопутствующие компоненты проб мочи не мешают определению.

В проведенных ранее исследованиях, показано, что воздействие винилхлорида способствует развитию изменений поведения белых крыс [13]. Так, у особей с интоксикацией винилхлоридом обнаруживается уси-

Таблица 1

Результаты обследования белых крыс в крестообразном лабиринте, Me (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Группы белых крыс		
	Хлорэтанол (ХЭ)	Монохлоруксусная кислота (МХУК)	Контроль, мкг/см ³
Начало посещения лабиринта, с	16 (7-33)*	12 (5-20)	8 (4-14)
Время полного обхода, с	184 (116-199)	144 (109-167)*	189 (155-204)
Общее кол-во переходов	6 (5-7)	8 (5-11)	5,5 (5-9)
Количество диаметральных переходов	1 (1-2)	2 (1-3)*	1 (0-2)

Примечание: * – отличия статистически значимы при сравнении с контролем, $p < 0,05$.

Таблица 2

Концентрации метаболитов в биосредах экспонированных животных, Me ($Q_{25} - Q_{75}$)

Соединение ХЭ		Экспериментальная группа белых крыс		
		МХУК	Контроль	
ХЭ в крови, мкг/см ³	1 час	2,4 (1,6-4,45)	<0,01	Не обнаружено
	2 часа	0,18 (0-0,39)*	<0,01	Не обнаружено
МХУК в моче, мкг/см ³		Не обнаружено	<0,01	Не обнаружено
ТДУК в моче, мкг/см ³		149 (117-242)**	87 (48-147)**	14 (6,6-27)

Примечание: * – при сравнении концентраций через 1 и 2 часа в опытной группе при $p < 0,05$, ** – при сравнении с контролем $p < 0,05$.

ление двигательной, ориентировочно-исследовательской активности, развивается негативно-эмоциональное, тревожное состояние. Эксперимент с воздействием метаболитов винилхлорида показал усиление исследовательской активности и тревожности у особей, подвергавшихся воздействию исследуемых веществ, что свидетельствует о их роли в развитии изменений функционирования ЦНС экспонированных животных.

Заключение. При исследовании воздействия вещества на организм важным является исследование содержания его метаболитов в биологических средах. Установлено, что введенный ХЭ быстро метаболизируется и его определение в крови имеет ограниченный временной интервал. МХУК, являющаяся метаболитом ВХ, не была выявлена ни в опытных, ни в контрольной группе, что, по-видимому, связано с ее биотрансформацией в ТДУК. Концентрация ТДУК,

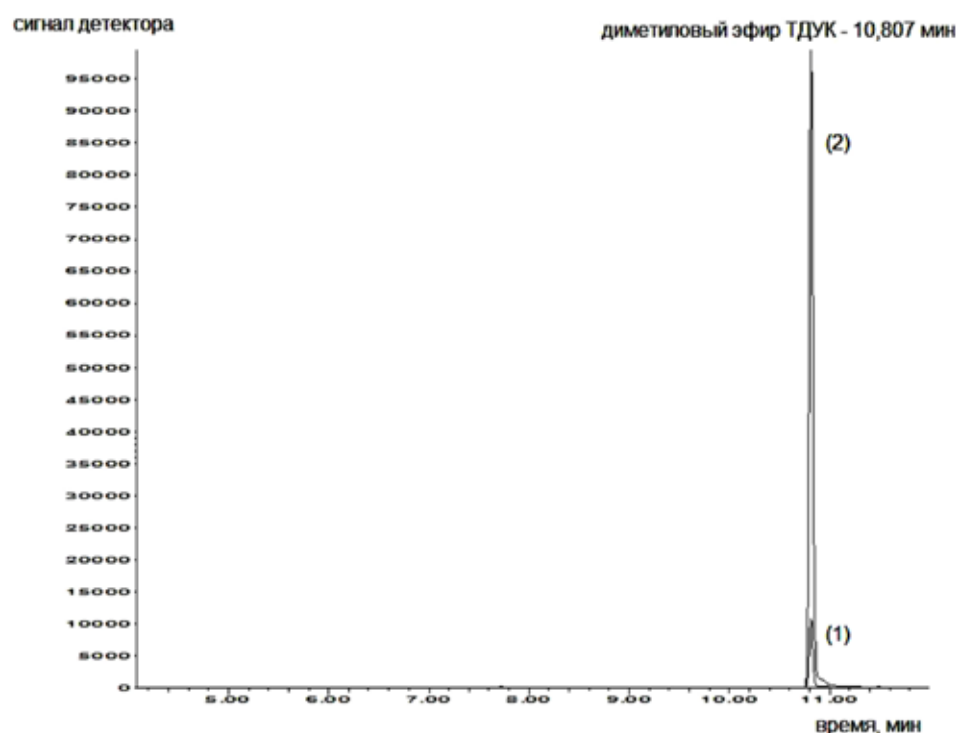


Рис. 1. Наложенные масс-хроматограммы проб мочи контрольного животного $C = 14$ мкг/см³ (1) и опытного животного $C = 87$ мкг/см³ (2). На осях координат – сигнал детектора; время.

имеющая в организме и фоновое значение, была значимо повышена у экспонированных животных даже через сутки после окончания воздействия. Таким образом, определение содержания ТДУК в биологических средах является наиболее аргументированным при изучении воздействия винилхлорида и его метаболитов, что согласуется с [14].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yong L., Feng N.N., Zhang G.H., Wang Q., Hao Y.H., Nanzhang Y. et al. Polymorphisms in the p53 pathway genes and micronucleus occurrence in chinese vinyl chloride-exposed workers. *International journal of occupational medicine and environmental health*. 2013; 26 (6): 825-836.
2. Кокаровцева М.Г., Киселёва Н.И. Хлорэтанол (этиленхлоридин) – один из токсичных метаболитов 1,2-дихлорэтана. *Фармакология и токсикология*. 1978; 1: 118-120.
3. The Environmental health criteria 215. Vinyl Chloride. Geneva: International programme on chemical safety; 1999.
4. Cheng T.J., Huang Y.E. Urinary thiodiglycolic acid levels for vinyl chloride monomer-exposed polyvinylchloride workers. *Journal of occupational environmental medicine*. 2001; 43 (11): 934-938.
5. Brandt-Rauf P. W., Li Y., Long C., Monaco R., Kowali G. et al. Plastics and carcinogenesis: The example of vinyl chloride. *Journal of carcinogenesis*. 2012; 11: 5.
6. Mutlu E., Collins L.B., Stout M.D., Upton P.B., Daye L.R., Darrell W. et al. Development and application of an LC-MS/MS method for the detection of the vinyl chloride-induced DNA adduct N2,3-ethenoguanine in tissues of adult and weanling rats following exposure to [13C2]-VC. *Chemical research in toxicology*. 2010; 23 (9): 1485-1491.
7. Qiu Y.L., Wang W., Wang T., Jing L., Pin S., Qian J., Jin L. et al. Genetic polymorphisms, messenger RNA expression of p53, p21, and CCND1, and possible links with chromosomal aberrations in Chinese vinyl chloride-exposed workers. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*. 2008; 17 (10): 2578-2584.
8. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высш. шк.; 1991.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Фисенко В.П. М.: 2005.
10. Алексеевко А.Н., Журба О.М., Меринов А.В., Королёва Г.Н. Определение монохлоруксусной кислоты в моче в виде её метилового эфира с использованием жидкостно-жидкостной микроэкстракции и капиллярной газожидкостной хроматографии. *Аналитика и контроль*. 2012; 16 (2): 174-180.
11. МУК 4.1.3057-13. Измерение массовой концентрации вредных веществ в биологических средах. Сборник методические указаний по методам контроля. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2013.
12. Журба О.М., Алексеевко А.Н., Шаяхметов С.Ф. Хромато-масс-спектрометрическое определение тиодиуксусной кислоты в моче. *Аналитика и контроль*. 2013; 17 (4): 445-451.
13. Соседова Л.М., Якимова Н.Л., Титов Е.А., Капустина Е.А. Экспериментальное моделирование токсической энцефалопатии. *Медицина труда и промышленная экология*. 2008; 5: 17-20.
14. Cheng T.J., Huang Y., Ma Y.C. Urinary thiodiglycolic acid levels for vinyl chloride monomer-exposed polyvinylchloride workers. *Journal of occupational environmental medicine*. 2001; 43 (11): 934-938.

REFERENCES:

1. Yong L., Feng N.N., Zhang G.H., Wang Q., Hao Y.H., Nanzhang Y. et al. Polymorphisms in the p53 pathway genes and micronucleus occurrence in chinese vinyl chloride-exposed workers. *International journal of occupational medicine and environmental health*. 2013; 26 (6): 825-836.
2. Kokarotseva M.G., Kiseleva N.I. Chloroethanol (chloroethanol) – one of toxic metabolites of 1,2-dichloroethane. *Farmakologiya i toksikologiya*. 1978; 1: 118-120 (in Russian).
3. The Environmental health criteria 215. Vinyl Chloride. Geneva: International programme on chemical safety; 1999.
4. Cheng T.J., Huang Y.E. Urinary thiodiglycolic acid levels for vinyl chloride monomer-exposed polyvinylchloride workers. *Journal of occupational environmental medicine*. 2001; 43 (11): 934-938.
5. Brandt-Rauf P. W., Li Y., Long C., Monaco R., Kowali G. et al. Plastics and carcinogenesis: The example of vinyl chloride. *Journal of carcinogenesis*. 2012; 11: 5.
6. Mutlu E., Collins L.B., Stout M.D., Upton P.B., Daye L.R., Darrell W. et al. Development and application of an LC-MS/MS method for the detection of the vinyl chloride-induced DNA adduct N2,3-ethenoguanine in tissues of adult and weanling rats following exposure to [13C2]-VC. *Chemical research in toxicology*. 2010; 23 (9): 1485-1491.
7. Qiu Y.L., Wang W., Wang T., Jing L., Pin S., Qian J., Jin L. et al. Genetic polymorphisms, messenger RNA expression of p53, p21, and CCND1, and possible links with chromosomal aberrations in Chinese vinyl chloride-exposed workers. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*. 2008; 17 (10): 2578-2584.
8. Buresh Ya., Bureshova O., Kh'yuston D.P. Methods and basic experiments on the study of the brain and behavior. M.: Vyssh. Shk.; 1991. (in Russian)
9. Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Pod red. Fisenko V.P. M.: 2005 (in Russian).
10. Alekseeenko A.N., Zhurba O.M., Merinov A.V., Koroleva G.N. Determination of monochloroacetic acid in the urine in the form of its methyl ester using liquid-liquid microextraction and capillary gas-liquid chromatography. *Analitika i kontrol'*. 2012; 16 (2): 174-180 (in Russian).
11. МУК 4.1.3057-13. Measurement of the mass concentrations of harmful substances in biological fluids. Collection of methodological guidelines for control methods. Sbornik metodicheskije ukazaniy po metodam kontrolya. M.: Federal'nyy tsentr gigeny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2013 (in Russian).
12. Zhurba O.M., Alekseeenko A.N., Shayakhmetov S.F. Chromato-mass spectrometric determination thiodiacetic acid in the urine. *Analitika i kontrol'*. 2013; 17 (4): 445-451 (in Russian).
13. Sosedova L.M., Yakimova N.L., Titov E.A., Kapustina E.A. Experimental modeling of toxic encephalopathy. *Occupational medicine and industrial ecology. Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2008; 5: 17-20 (in Russian).
14. Cheng T.J., Huang Y., Ma Y.C. Urinary thiodiglycolic acid levels for vinyl chloride monomer-exposed polyvinylchloride workers. *Journal of occupational environmental medicine*. 2001; 43 (11): 934-938.

O.M. Zhurba, E.A. Kapustina

EXPOSURE TO VINYL CHLORIDE METABOLITES STUDIED IN WHITE RATS

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Researches, 665827, Angarsk, Russian Federation

The paper presents experimental data on the effect of vinyl chloride metabolites on the white rats behavior and results of their quantitative content in biological fluids of animals exposed to xenobiotics. Animals divided into groups received intraperitoneal injections of chloroethanol (CE) in a concentration of 20 mg/kg, monochloroacetic acid (MCAA) in a concentration of 10 mg/kg, control animals received distilled water. A total duration of exposure to xenobiotics was 2 weeks. The animals were surveyed in the tests “maze” and “open field”. To measure the concentrations of metabolites in biological samples, were used gas chromatography techniques with electron capture (GS-ECD) and mass selective detection (GC-MS). It was found out that the exposure to chloroethanol and monochloroacetic acid affected the behavior of experimental animals. Exposure to chloroethanol contributed to the development of anxiety and increased level of exploratory activity in experimental animals. Intoxication with monochloroacetic acid also contributed to a more pronounced exploratory behavior along with excitement (agitation). In animals exposed to CE, the presence of this compound in blood was revealed an hour after termination of the last injection. However as early as 2 hours after exposure, the concentration of CE decreased 13-fold. In control animals chloroethanol in the blood was not found. In two experimental groups as well as in the control, the presence of MCAA was not detected. The content of thiodiacetic acid (TDAA) significantly differed from the control values.

Keywords: experimental studies, vinyl chloride, vinyl chloride metabolites, gas chromatography, behavior of white rats.

Материал поступил в редакцию 13.04.2016 г.

УДК 57.085.2

АНАЛИЗ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КРАТКОВРЕМЕННОЙ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКА

В.А. Вокина,
Н.Л. Якимова,
Л.М. Соседова

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, г. Ангарск, Российская Федерация

Проведено исследование цитотоксичности 29-ти образцов мочи и 13 образцов почвы и снегового покрова с использованием кратковременной суспензионной культуры сперматозоидов быка на анализаторе токсичности АТ-05. Для каждого образца проведено 3-4 повторных серий испытаний с использованием новых опытных и контрольных растворов, а также вновь размороженной суспензии сперматозоидов. Для оценки воспроизводимости результатов измерений определяли коэффициент вариации индекса токсичности (It). Показано, что It является высоко вариабельным показателем. Повторные серии испытаний позволяют снизить вероятность ошибки при исследовании.

Ключевые слова: воспроизводимость, цитотоксичность, анализатор токсичности.

Введение. Анализатор токсичности АТ-05 является широко используемым экспресс-методом оценки токсичности различных материалов на суспензии сперматозоидов быка. Использование данного метода на практике позволяет оптимизировать токсикологические исследования на предварительном этапе. Метод используется при проведении санитарно-эпидемиологических экспертиз текстильных, медицинских и полимерных материалов, а также парфюмерно-косметической продукции, отходов производства и т.п. [1,2,3,4,5]. Кроме того, есть данные о его применении в аллергологической клинической практике, для скрининга токсичности биологических жидкостей [6,7,8]. Как и в любом приборе, эксплуатация АТ-05 сопровождается определенной точностью и воспроизводимостью измерений, которые обусловлены как параметрами прибора, так и особенностями работающих на нем операторов. При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с методикой для экспресс-оценки острой токсичности водных вытяжек из почв, отходов производства и потребления, а также сточных, поверхностных

и грунтовых вод [9] границы погрешности (относительной ($\pm\delta$) и приведенной к верхнему пределу диапазона измерений ($\pm\delta_{пр}$) составляют от 20 до 40 % в зависимости от вида исследуемого объекта. По протоколу исследований, предложенному разработчиками метода, дополнительные серии испытаний предусмотрены в случаях, если: 1) величина It находится за пределами рекомендуемого интервала значений, 2) коэффициент вариации средневзвешенного времени подвижности сперматозоидов для контрольной и опытной проб - $K_{вар} > 15\%$ (для проб текстильных материалов) [1], $K_{вар} > 0,25\%$ (для проб воздуха) [10], $K_{вар} > 7\%$ при $It \geq 50\%$ и $K_{вар} > 15\%$ при $It \leq 50\%$ (для проб почв, почвогрунтов, вод и отходов) [5,9]. Ошибка метода, количественно выражаемая показателями повторяемости и вариабельности, а также значения погрешности (и ее составляющих) при использовании АТ-05 для оценки цитотоксичности биологических жидкостей изучена пока недостаточно. Несомненно, при использовании стандартных подходов по оценке показателей валидации данного метода, воспроизводимость метода может быть оценена как низкая, так как в его основе лежит

Вокина Вера Александровна (Vokina Vera Alexandrovna), к.б.н., научный сотрудник ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, г. Ангарск, Российская Федерация, vokina.vera@gmail.com
Якимова Наталья Леонидовна (Yakimova Natalia Leonidovna), к.б.н., старший научный сотрудник ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, г. Ангарск, Российская Федерация, ynl-77@list.ru
Соседова Лариса Михайловна (Sosedova Larisa Michailovna), д.б.н., профессор, заведующая лабораторией ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, г. Ангарск, Российская Федерация, tox_lab@mail.ru

анализ подвижности живого объекта – суспензии сперматозоидов, а не классический процесс химических или биохимических реакций, как в случае с аналитическими методами с применением стандартных образцов.

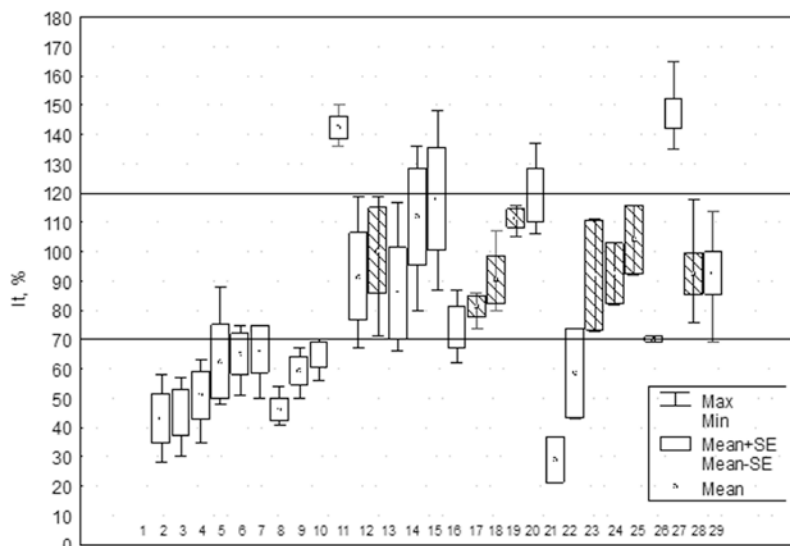
В связи с изложенным, целью настоящей работы явилась оценка воспроизводимости результатов измерений It образцов мочи, почвы и снегового покрова на приборе АТ-05, полученных в условиях воспроизводимости (один оператор, короткий временной интервал, идентичный материал).

Материалы и методы исследования. При проведении экспериментов по сходимости результатов при исследовании цитотоксичности с использованием кратковременной суспензионной культуры сперматозоидов быка исследовались образцы

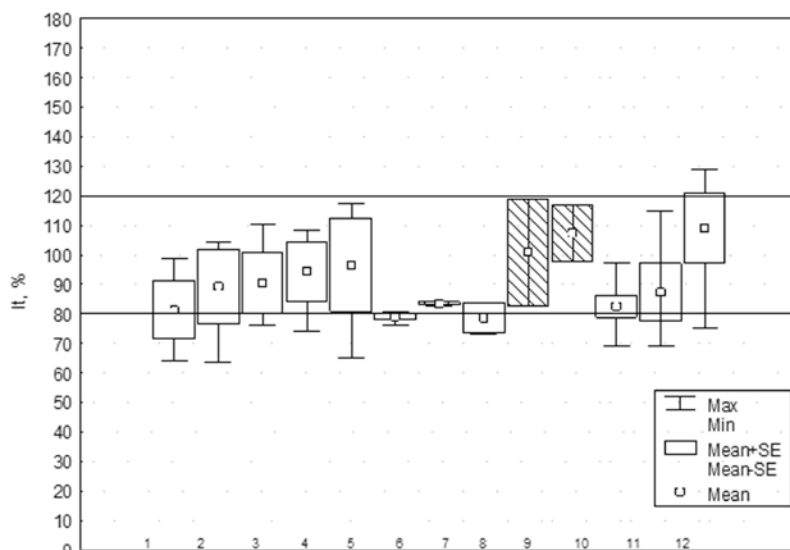
мочи детского населения (n=29), снегового покрова (n=6), а также образцы почвы (n=7). Пробоподготовку образцов почвы и снега проводили в соответствии с методическими рекомендациями [9], образцы мочи предварительно доводили до изотонии добавлением глюкозы и цитрата натрия, затем разводили глюкозо-цитратной средой 1:2 по методике, предложенной Еськовым А.П. и соавт. [7]. Оценку цитотоксичности исследуемых образцов проводили с использованием анализатора токсичности «АТ-05» по изменению двигательной активности сперматозоидов быка. Критериальным показателем цитотоксичности являлся (It). Согласно протоколу, предложенному разработчиками АТ-05, образец считали нетоксичным, если значение индекса токсичности находилось в пре-

делах от 70 до 120 % для проб мочи, для образцов почвы и снега – от 80 до 120%. Для оценки воспроизводимости результатов измерений проведено 3-4 повторных серий испытаний для каждого образца, в каждой из которых использовались разные серии опытных и контрольных растворов, а также вновь размороженная суспензия сперматозоидов. После получения результатов измерений It образцов почвы, снега и мочи была проведена статистическая обработка данных с вычислением среднего значения, стандартного отклонения и коэффициента вариации (отношение стандартного отклонения к среднему значению). Статистическая обработка выполнена с использованием ППП Statistica 6.0. (StatSoft) (лиц № АХХR004Е642326FA).

Результаты и обсуждение. По результатам первого тестирования было обнаружено 15 нетоксичных образцов мочи (из 29-ти), значения It которых находились в диапазоне $70\% \leq It \leq 120\%$. Все регламентирующие правила методики были выполнены, $K_{\text{вар}}$ средневзвешенного времени подвижности сперматозоидов для контрольной и опытной проб не превышал 15%, что позволяло прекратить дальнейшие исследования для данных проб. Однако при проведении повторных серий испытаний It значительно варьировал, переходя границы рекомендуемого интервала. Так, в пробе № 4 в первой серии испытаний It составил 88,2, что позволяет считать результат статистически значимым и отнести данную пробу к нетоксичным, однако при повторных испытаниях It снизился до 48,2 и 50,6% - что соответствовало токсичным образцам (рис. 1А). В целом при 3-4 повторных испытаниях было выявлено еще 7 токсичных проб мочи. Только у 8-ми образцов во всех сериях испытаний It



А



В

Рис. 1. Результаты последовательных измерений индекса токсичности образцов: А – моча; В – почва и снег. Штриховкой показаны нетоксичные пробы, линиями – интервал, при соответствии которому образец считается нетоксичным. По оси абсцисс указан номер образца.

находился в пределах допустимого интервала – 70-120%. При повторных исследованиях токсичных образцов результат подтвержден в 12 из 14 пробах.

Анализ результатов исследования образцов снега и почвы показал, что при соблюдении всех необходимых условий тестирования и протокола испытаний, при первом тестировании из 13 проб нетоксичными следовало считать 7 проб, токсичными - 6. Однако при повторных испытаниях дополнительно выявлено 4 токсичных пробы. Так, при трех последовательных испытаниях пробы №11 It составлял соответственно 89,5; 69,2 и 97,0% и не позволял однозначно трактовать полученный результат (рис. 1В).

Заключение. Анализ данных каждого образца показал, что коэффициент вариации It достигает

высоких значений, независимо от типа тестируемого образца - биологическая жидкость или снег и почва. В большинстве случаев It демонстрировал высокую вариабельность, что, по всей вероятности, может быть обусловлено качественными характеристиками сперматозоидов.

Таким образом, отнесение испытуемого образца к токсичному или нетоксичному в пределах однократного исследования следует проводить с осторожностью. Мы рекомендуем проводить повторные серии испытаний (3-4) для образцов, у которых первично It соответствовал нетоксичным образцам. Согласно протоколу, предложенному разработчиками, повторные исследования предусмотрены только при получении значений It, не соответствующего рекомендованному интервалу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ГОСТ Р 32075-2013. Материалы текстильные. Метод определения токсичности. Москва: Стандартинформ, 2015.
2. ГОСТ Р 52770-2007. Изделия медицинские. Требования безопасности. Методы санитарно-химических и токсикологических испытаний. Москва: Стандартинформ, 2007.
3. МУ 1.1.037-95. Методические указания. Биотестирование продукции из полимерных и других материалов. Москва: Госкомсанэпиднадзор России, 1996.
4. МР 29ФЦ/394. Методические рекомендации. Экспресс-метод оценки общетоксического и кожно-раздражающего действия парфюмерно-косметической продукции in vitro (на культуре подвижных клеток). Москва: Минздрав России, 2001
5. МР 2.1.7.2279-07. Экспресс-оценка токсичности отходов производства и потребления на культуре клеток млекопитающих. Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008.
6. Ежова О.А., Хлебникова Н.Н., Алчинова И.Б., Архипова Е.Н., Карганов М.Ю., Торшин В.И. Новые методы

- лабораторной диагностики и контроля эффективности терапии аллергических заболеваний. Вестник РУДН. Сер. Медицина. 2008; 3: 52-58.
7. Еськов А.П., Каюмов Р.И., Соколов А.Е., Ткачев В.К., Захаров В.Ю., Шашков Б.В. Скрининг токсичности биологических жидкостей. Клиническая лабораторная диагностика. 2002; 5: 45-47.
8. Еськов А.П., Каюмов Р.И., Ткачев В.К., Захаров В.Ю., Шашков Б.В. Оценка токсемии крови с использованием кратковременной суспензионной культуры подвижных клеток (спермы быка). Токсикологический вестник. 2000; 6: 10-12.

9. ФР.1.31.2009.06301. ПНД Ф 14.1:2:4:15-09; 16.1:2:3:3.13-09. Методика выполнения измерений индекса токсичности почв, почвогрунтов, вод и отходов по изменению подвижности половых клеток млекопитающих in vitro.
10. МР 29ФЦ/2688-2003. Методические рекомендации. Экспресс-метод оценки токсичности проб воздуха по водорастворимым компонентам с использованием в качестве тест-объекта спермы крупного рогатого скота. Москва: Минздрав России, 2003.

REFERENCES:

1. State Standard R 32075-2013. Textile materials. Method of determination of toxicity. Moscow: Standartinform Publ., 2015 (in Russian).
2. State Standard R 52770-2007. Medical devices. Safety requirements. Methods of sanitary-chemical and toxicological tests. Moscow: Standartinform Publ., 2007 (in Russian).
3. Methodical Guidelines 1.1.037-95. Methodical instructions. The bioassay production of polymeric and other materials. Moscow: Goskomsanepidnadzor Rossii, 1996 (in Russian).
4. Methodical Guidelines 2.1.7.2279-

07. An express assessment of toxicity of production wastes and consumption on culture of cages of mammals. Moscow: Federal'nyy tsentr gigeny i epidemiologii Rospotrebнадзора, 2008 (in Russian).
5. Methodical Guidelines 29FTs/394. Guidelines. Express-method of assessing general toxicity and skin-irritating perfumes and cosmetic products in vitro (in the culture of motile cells). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation, 2001 (in Russian).
6. Ezhova O.A., Khlebnikova N.N., Alchinova I.B., Arkhipova E.N., Karganov M. Yu., Torshin V.I. New methods of laboratory

- diagnostics and control of efficiency of therapy of allergic diseases. Vestnik RUDN. Ser. Meditsina. 2008; 3: 52-58 (in Russian).
7. Es'kov A.P., Kayumov R.I., Sokolov A.E., Tkachev V.K., Zakharov V.Yu., Shashkov B.V. Screening of toxicity of biological liquids. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2002; 5: 45-47. (in Russian).
8. Es'kov A.P., Kayumov R.I., Tkachev V.K., Zakharov V.Yu., Shashkov B.V. Assessment of a blood toksemiya with use of short-term suspension culture of mobile cages (sperm of a bull). Toksikologicheskii vestnik. 2000; 6: 10-12. (in Russian).
9. FR.1.31.2009.06301. PND F 14.1:2:4:15-09; 16.1:2:3:3.13-09. Method of performance of measurements of an index of toxicity of soils, waters and waste on change of mobility of gametes of mammals of in vitro. Moscow: MGU, 2009 (in Russian).
10. Methodical Guidelines 29FTs/2688-2003. An express method of an assessment of toxicity of tests of air on water soluble components with use as test object of sperm of cattle. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation, 2003 (in Russian).

V.A. Vokina, N.L. Yakimova., L.M. Sosedova

ANALYSIS OF RESULTS REPRODUCIBILITY IN THE CYTOTOXICITY STUDIES PERFORMED WITH THE USE OF BULL SPERMATOZOA SHORT-TERM SUSPENSION CULTURE

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Researches, 665827, Angarsk, Russian Federation

Cytotoxicity of urine (n=29), soil and snow (n=13) using bull spermatozoa short-term suspension culture and analyzer AT-5 was studied. For each sample, 3 to 4 repeated series of tests were carried out with new test and control solutions as well as with newly defrosted bull spermatozoa suspension. To assess reproducibility of results, a variation factor for the index of toxicity (It) was determined. It is shown that It is highly variable. Repeated series of tests allow to lower probability of error in the research.

Keywords: reproducibility, cytotoxicity, toxicity analyzer.

Переработанный материал поступил в редакцию 14.01.2016 г.

УДК 616.9 : 547.262

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ САЛЬМОНЕЛЛЁЗОМ И НЕИНФЕКЦИОННЫМ ГАСТРОЭНТЕРИТОМ, СВЯЗАННЫМ С ТОКСИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ АЛКОГОЛЯ

П.В. Макаров¹,
Л.В. Погорельская²

¹ГБОУ ВПО Тверской ГМУ
Минздрава России, 170100,
г. Тверь, Российская Федерация
²ГБОУ ВПО Российская
медицинская академия
последипломного образования
Минздрава России, 123836,
г. Москва, Российская
Федерация

Работа посвящена изучению влияния токсических доз алкоголя и сальмонеллёзной инфекции на состояние иммунореактивности организма.

Исследовали показатели иммунограммы у здоровых лиц, больных острым алкогольным гастроэнтеритом и пациентов с сальмонеллёзным гастроэнтеритом.

Определение иммунореактивности у больных сальмонеллёзным и алкогольным гастроэнтеритами может быть полезным в практической деятельности врача и служить цели раннего разграничения данных патологических состояний. У больных сальмонеллёзным гастроэнтеритом наблюдалось более высокое процентное содержание CD₁₉ лимфоцитов по сравнению с пациентами с острым алкогольным гастроэнтеритом. Наибольшие отличия в иммунореактивности выявлены в отношении показателей иммуноглобулина М, что позволяет использовать данный показатель для дифференциальной диагностики сальмонеллёзного и острого алкогольного гастроэнтеритов. Предложен способ дифференциальной диагностики сальмонеллёзного и алкогольного гастроэнтеритов, где при значениях иммуноглобулина М ниже 1,4 г/л диагностируют алкогольный гастроэнтерит, а при значениях выше 1,6 г/л – сальмонеллёзный гастроэнтерит.

Ключевые слова: сальмонеллёз, алкоголь, гастроэнтерит, иммунитет.

Введение. Распоряжением правительства Российской Федерации от 30 декабря 2009 г. № 2128-р одобрена концепция реализации государственной политики по снижению масштабов злоупотребления алкогольной продукцией и профилактике алкоголизма среди населения Российской Федерации на период до 2020 года. Отмечено, что в Российской Федерации с 1998 года наблюдается ежегодное увеличение производства и продажи слабоалкогольных напитков, включая пиво. Прямые и косвенные экономические потери от алкоголизации населения наносят ощутимый вред социально-экономическому развитию страны [1].

Уменьшению потребления алкоголя, а значит и вредных последствий его употребления, посвящено постановление Правительства РФ от 27 декабря 2012 г. № 1425 «Об определении органами государственной власти субъектов Российской Федерации мест массового скопления граждан и мест нахождения источников повышенной опас-

ности, в которых не допускается розничная продажа алкогольной продукции, а также определении органами местного самоуправления границ прилегающих к некоторым организациям и объектам территорий, на которых не допускается розничная продажа алкогольной продукции» [2].

В России за минувшие два десятилетия потребление алкоголя в расчёте на душу населения увеличилось в 1,5 раза и достигло 18 литров абсолютного алкоголя (чистого спирта), что в два раза выше того уровня, который Всемирная организация здравоохранения признала особо опасным для здоровья людей. По оценкам экспертов, число людей, потребляющих данное количество алкоголя, составляет около 5 млн. человек, или 3,4% от всего населения России [3].

Алкоголь и сальмонеллёз могут приводить к поражению пищеварительной системы [4, 5]. Установление причинного фактора в развитии острого гастроэнтерита определяет тактику лечения (антибактериальные препараты или сред-

Макаров Павел Викторович (Makarov Pavel Viktorovich), ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ГБОУ ВПО Тверской ГМУ Минздрава РФ, 170100, г. Тверь, Российская Федерация, makarov.tver@mail.ru
Погорельская Лидия Васильевна (Pogorelskaya Lidia Vasilevna), д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней ГБОУ ДПО Российской медицинской академии последипломного образования, 123836, г. Москва, Российская Федерация, LV2009@Pmail.ru

ства, стабилизирующие мембраны эритроцитов за счёт нормализации обмена липидов).

В большинстве случаев клинические и обычные лабораторные признаки не являются значимыми при дифференциальной диагностике острого алкогольного и сальмонеллёзного гастроэнтеритов [6].

Цель работы: определение состояния иммунореактивности у больных сальмонеллёзным и острым алкогольным гастроэнтеритами для возможного разграничения данных патологических состояний.

Материалы и методы исследования. Процентное содержание CD_3 , CD_4 , CD_8 , CD_{19} , иммунорегуляторного индекса CD_4/CD_8 и содержание иммуноглобулинов основных классов было исследовано у 50 здоровых лиц, 30 больных гастроэнтеритическим вариантом гастроинтестинальной формы сальмонеллёза средней тяжести, вызванной *S. Enteritidis* не злоупотребляющих алкоголем [7] и 30 больных неинфекционным гастроэнтеритом [8], связанным с токсическим действием алкоголя (острым алкогольным гастроэнтеритом) [9]. Критерии не злоупотребления алкоголем заключались: в отсутствии употребления алкоголя в течение недели предшествующей началу болезни; признаков абстинентного синдрома (тремор пальцев кистей рук и кончика языка, скандированная речь), пальмарной эритемы, сосудистых звёздочек, увеличения диаметра воротной вены.

Все больные острым алкогольным гастроэнтеритом поступали в стационар после значительной

алкогольной нагрузки, заболели остро и отрицали наличие хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта. В группу вошли пациенты с отрицательными результатами обследования на сальмонеллы, шигеллы, эшерихии, кампилобактерии, ротавирусы, энтеровирусы, норовирусы, условно патогенной микрофлоры.

Все обследованные лица были в возрасте от 20 до 60 лет.

Возрастные показатели больных сравниваемых групп были близкими. Средний возраст больных сальмонеллёзным гастроэнтеритом составил $34,3 \pm 2,3$ года, а больных острым алкогольным гастроэнтеритом – $37,3 \pm 1,5$ года. Среди обследованных преобладали лица мужского пола. Показатели пациентов проверялись на предмет выявления эмпирических функций их распределения и соответствие этих функций нормальной функции распределения (функция Гаусса). Применялся критерий согласия Шапиро-Уилка, который применим при небольшом количестве измерений ($n < 50$). Для нормально распределённых показателей сравнение групп проводилось с применением t-критерия Стьюдента. Обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием программ Microsoft Exel и Biostat.

Результаты и обсуждение. Анализ иммунограмм по сопоставлению данных процентного содержания CD клеток показал, что (табл. 1) по сравнению со здоровыми лицами у больных острым алкогольным гастроэнтеритом выявлен более низкий уровень CD_{19} , а у больных сальмо-

Таблица 1

Показатели CD_3 , CD_4 , CD_{19} -клеток, иммунорегуляторного индекса CD_4/CD_8 у здоровых лиц, больных острым алкогольным гастроэнтеритом и больных сальмонеллёзным гастроэнтеритом

Показатель иммунитета	Группы обследованных (M ± m)				
	Здоровые лица n – 50	Больные сальмонеллёзным гастроэнтеритом n – 30	Больные острым алкогольным гастроэнтеритом n – 30	P1	P2
CD_3 (в %)	$64,2 \pm 2,5$	$61,3 \pm 1,3$	$66,5 \pm 4,5$	$>0,05$	$>0,05$
CD_4 (в %)	$51,2 \pm 3,5$	$53,2 \pm 4,8$	$54,2 \pm 5,1$	$>0,05$	$>0,05$
CD_8 (в %)	$20,1 \pm 3,1$	$18,4 \pm 3,2$	$21,0 \pm 3,2$	$>0,05$	$>0,05$
CD_4/CD_8 (ед.)	$2,5 \pm 0,07$	$2,8 \pm 0,08$	$2,5 \pm 0,06$	$<0,01$	$<0,01$
CD_{19} (в %)	$12,2 \pm 0,7$	$10,5 \pm 0,7$	$8,1 \pm 0,53$	$>0,05$	$<0,01$

Примечание:

P1- достоверность различий между больными сальмонеллёзным гастроэнтеритом и здоровыми лицами;

P2 – достоверность различий между больными сальмонеллёзным гастроэнтеритом и острым алкогольным гастроэнтеритом;

Достоверное отличие показателей иммунитета у больными острым алкогольным гастроэнтеритом и здоровыми лицами (1-P<0,05, 2-P<0,01, 3-P<0,001).

Содержание сывороточных иммуноглобулинов G, A и M у здоровых лиц, больных сальмонеллёзным и острым алкогольным гастроэнтеритами

Сравниваемые группы	n	Показатели иммуноглобулинов (M ± m) в г/л		
		IgG	IgA	IgM
Здоровые лица	50	13,2 ± 0,2	2,3 ± 0,03	1,2 ± 0,02
Больные сальмонеллёзным гастроэнтеритом	50	18,4 ± 0,3	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1
Больные острым алкогольным гастроэнтеритом	30	17,5 ± 0,9 ³	2,9 ± 0,2 ³	1,3 ± 0,1
P1		>0,05	>0,05	<0,001
P2		<0,001	<0,01	<0,001

Примечание:

P1- достоверность различий между больными сальмонеллёзным гастроэнтеритом и острым алкогольным гастроэнтеритом; P2 – достоверность различий между здоровыми лицами и больными сальмонеллёзным гастроэнтеритом. Достоверное отличие показателей лейкоцитарной формулы у больных острым алкогольным гастроэнтеритом и здоровых лиц (1-P<0,05, 2-P<0,01, 3-P<0,001).

неллёзным гастроэнтеритом в отличие от здоровых лиц наблюдались более высокие значения иммунорегуляторного индекса CD₄/C₈.

Больные сальмонеллёзным гастроэнтеритом отличались по показателям от пациентов с острым алкогольным гастроэнтеритом более высоким процентным содержанием CD₁₉ лимфоцитов и более высокими цифровыми значениями иммунорегуляторного индекса CD₄/CD₈.

Коэффициент сходства по показателям CD₃, CD₄, CD₁₉-клеток, иммунорегуляторного индекса CD₄/CD₈ (отношение достоверно неразличимых по значениям показателей к общему их количеству) между больными сальмонеллёзным гастроэнтеритом и острым алкогольным гастроэнтеритом составил 0,4. То есть, почти в половине случаев с помощью данных тестов невозможно отграничить токсический острый алкогольный гастроэнтерит от сальмонеллёзного гастроэнтерита.

Содержание сывороточных иммуноглобулинов G и A у больных острым алкогольным гастроэнтеритом (табл. 2) оказалось достоверно выше, чем у здоровых лиц. Уровень же IgM был близким, то есть, достоверно не различался.

У больных сальмонеллёзным гастроэнтеритом содержание иммуноглобулинов сыворотки крови также было достоверно выше, чем у здоровых лиц. В большей степени возрастал уровень IgG и IgM (P<0,001). Уровень IgA у больных сальмонеллёзным гастроэнтеритом был выше, чем у здоровых лиц, но не столь заметно, как имму-

ноглобулина M и G.

Сравнение количественного содержания иммуноглобулинов сыворотки крови у больных острым алкогольным гастроэнтеритом и сальмонеллёзным гастроэнтеритом показало отсутствие достоверных различий по уровню иммуноглобулинов G и A. Однако установлено, что содержание иммуноглобулина M у больных сальмонеллёзным гастроэнтеритом оказалось в 2 раза выше, чем у пациентов с острым алкогольным гастроэнтеритом.

Поскольку IgG представляют собой антитоксические антитела, высокое их содержание в сыворотке крови больных как сальмонеллёзным гастроэнтеритом, так и больных острым алкогольным гастроэнтеритом может быть обусловлено как, бактериальной, так и алкогольной интоксикацией. Существенное превышение уровня IgM (антибактериальные антитела) у больных сальмонеллёзным гастроэнтеритом по сравнению со здоровыми лицами и больными острым алкогольным гастроэнтеритом, скорее всего, связано с необходимостью борьбы с инфекционным агентом в виде сальмонеллёзных бактерий. Близкие к норме значения показателей IgM у больных острым алкогольным гастроэнтеритом показывают отсутствие необходимости синтеза антибактериальных антител, поскольку причина гастроэнтерита иная.

Коэффициент сходства (отношение достоверно неразличимых показателей лабораторных тестов к их общему количеству) между группой больных

острым алкогольным и сальмонеллезным гастроэнтеритами был равен 0,66. Вероятно, необходимо продолжить поиск тестов для более высокой эффективности дифференциальной диагностики данных патологических состояний с коэффициентом сходства, который стремился бы к нулю.

Заключение. Определение иммунореактивности у больных сальмонеллезным и алкогольным гастроэнтеритами может быть полезным в практической деятельности врача и служить цели раннего разграничения данных патологических состояний.

У больных острым алкогольным гастроэнтеритом наблюдалось более низкое процентное содержание CD₁₉ лимфоцитов по сравнению со

здоровыми лицами и пациентами с сальмонеллезным гастроэнтеритом.

Наибольшие отличия в иммунореактивности выявлены в отношении показателей иммуноглобулина М, что позволяет использовать данный показатель для дифференциальной диагностики сальмонеллезного и острого алкогольного гастроэнтеритов. Предложен способ дифференциальной диагностики сальмонеллезного и алкогольного гастроэнтеритов, где при значениях иммуноглобулина М ниже 1,4 г/л диагностируют острый алкогольный гастроэнтерит, а при значениях выше 1,60 г/л – сальмонеллезный гастроэнтерит (Приоритетная справка на изобретение № 2015119166 от 21.05.2015).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Постановление Правительства Российской Федерации от 27 декабря 2012 г. № 1425. Available at: <http://tonnametr.ru/viewtopic.php?id=1939>
2. Распоряжение правительства Российской Федерации от 30 декабря 2009 г. N 2128-п. Available at: http://www.pravowed.ru/topnews/borba_s_alkogol.html
3. Хагуров Т. А., Позднякова М. Е.,

- Ракачев В.Н., Рыбакова Л.Н., Чекинева Т.В. «и др». Девиантное поведение в современной России: алкоголь, наркотики, молодежный экстремизм (концепции и исследования). М.: Институт социологии РАН; 2014: 200.
4. Kirk S.F., Greenwood D., Cade J.E., Pearman A.D. Public perception of a range of potential food risks in the United Kingdom. *Appetite*. 2002; 38(3):189-197.

5. de Menezes R.F., Bergmann A, Thuler L.C. Alcohol consumption and risk of cancer: a systematic literature review. *Pac J Cancer Prev*. 2013; 14(9): 4965-4972.
6. Cogan T.A., Humphrey T.J. The rise and fall of Salmonella Enteritidis in the UK. *J. Appl. Microbiol*. 2003; 94: 114-119.
7. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятый пересмотр.

- ВОЗ, Женева 1995; 1(1): 104.
8. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятый пересмотр. ВОЗ, Женева. 1995; 1(1): 587.
 9. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятый пересмотр. ВОЗ, Женева. 1995; 1(2): 337.

REFERENCES:

1. Decision of government of Russian Federation from December 27, 2012 № 1425. Available at: <http://tonnametr.ru/viewtopic.php?id=1939> (in Russian)
2. Solution of government of Russian Federation from December 30, 2009 N 2128-p. Available at: http://www.pravowed.ru/topnews/borba_s_alkogol.html (in Russian)
3. Khagurov T. A., Pozdnyakova M. E.,

- Rakachev, V.N., Rybakova, L.N. Chekineva T.V., Reznik A.P."et al.". Deviating behavior in modern Russia: alcohol, drugs, youth extremism (concept and research). M.: Institute of sociology RAN.: 2014; 200. (in Russian)
4. Kirk S.F., Greenwood D., Cade J.E., Pearman A.D. Public perception of a range of potential food risks in the United Kingdom. *Appetite*. 2002; 38 (3):189-197.

5. de Menezes R.F., Bergmann A, Thuler L.C. Alcohol consumption and risk of cancer: a systematic literature review. *Pac J Cancer Prev*. 2013; 14 (9): 4965-4972.
6. Cogan T.A., Humphrey T.J. The rise and fall of Salmonella Enteritidis in the UK. *J. Appl. Microbiol*. 2003; 94: 114-119.
7. International statistical classification of illnesses and problems, bound with

- health, tenth revising. WHO, Geneva 1995; 1 (1): 104.
8. International statistical classification of illnesses and problems, bound with health, tenth revising. WHO, Geneva. 1995; 1 (1): 587.
 9. International statistical classification of illnesses and problems, bound with health, tenth revising. W, Geneva. 1995; 1 (2): 337.

P.V. Makarov¹, L.V. Pogorelskya²

CERTAIN IMMUNITY INDICES IN PATIENS WITH SALMONELLOSIS AND NON INFECTIOUS GASTROENTERITIS LINKED TO ALCOHOL TOXIC EFFECT

¹Tver State Medical University, Ministry of Healthcare of Russia, 170100

²Russian Medical Academy of Postgraduate Education, 123836, Moscow, Russian Federation

The impact of alcohol toxic doses and salmonella infection on the immune system was studied. Immunogram parameters in healthy persons, patients with acute alcohol gastroenteritis and patients with salmonella gastroenteritis were investigated. Identification of immune reactivity in patients with salmonella and alcohol gastroenteritis is helpful in physicians' practice and serves for early demarcation between data on pathologies. A higher percentage of CD₁₉ lymphocytes in patients with salmonella gastroenteritis was observed compared to those suffering from acute alcohol gastroenteritis. The largest differences in immune reactivity were found out in immunoglobulin M indices that permits to use this index for differential diagnosis of salmonella gastroenteritis and acute alcohol gastroenteritis. A method is proposed for differential diagnosis of salmonella and alcohol gastroenteritis which permits to detect alcohol gastroenteritis with values of immunoglobulin M below 1.4 g/l and at values above 1.6 g/l salmonella enteritis is diagnosed.

Keywords: salmonella, alcohol, gastroenteritis, immunity.

Материал поступил в редакцию 12.02.2016 г.

УДК 547.262 :615.099

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТЯЖЕЛОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТИЛОВЫМ СПИРТОМ

Д.А. Халютин¹, Р.А. Тарумов^{1,2},
А.А. Ховпачёв¹, В.Л. Рейнюк¹,
А.Е. Антушевич¹, А.Н. Гребенюк^{1,3}

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

²637 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства обороны Российской Федерации, 299028, г. Севастополь, Российская Федерация

³Федеральное 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 исследования биохимических показателей сыворотки крови, гомогенатов печени и головного мозга крыс при остром отравлении этиловым спиртом на фоне применения пептидных препаратов моликсана и семакса. Этанол в виде 40% раствора вводили внутривенно в дозе 12 г/кг, что соответствовало 1,5 ЛД₅₀. Моликсан вводили внутривенно в дозе 30 мг/кг, семакс – интраназально в дозе 3 мг/кг. Эффективность препаратов оценивали при лечебно-профилактической (за 1 ч до и сразу после введения этанола) схеме применения. Оценку исследуемых биохимических показателей проводили через 3 ч, 1 сут и 3 сут после моделирования алкогольной интоксикации. Показано, что острое тяжелое отравление этанолом сопровождалось возникновением цитолитического и холестатического синдромов поражения печени отравленных животных, а также усилением процессов оксидативного стресса, варьировавшими в зависимости от времени после введения этанола. Лечебно-профилактическое применение моликсана и семакса оказывало положительное влияние на динамику показателей, характеризующих обмен веществ, печеночный цитолиз, а также увеличивало содержание восстановленного глутатиона и снижало уровень малонового диальдегида в тканях отравленных животных.

Ключевые слова: этанол, отравление, пептиды, моликсан, семакс, биохимия крови, восстановленный глутатион, малоновый диальдегид.

Введение. Благодаря активным мерам, принимаемым государством по сокращению потребления алкогольной продукции, уровень потребления этанола в нашей стране постепенно снижается [1]. Однако, несмотря на положитель-

ную динамику продаж и потребления алкогольной продукции, уровень смертности от острых алкогольных интоксикаций остается на прежнем уровне, занимая в среднем 60% всех смертельных исходов от острой химической патологии и 25%

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

Тарумов Роман Алексеевич (Tarumov Roman Alexeevich), кандидат медицинских наук, старший врач-эксперт отделения военного труда, токсикологии и радиологии 637 ЦГСЭН МО РФ, 299028, г. Севастополь; соискатель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, tarumov_ra@mail.ru

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

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 (Grebnyuk 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; заведующий лабораторией токсикологии Северо-Западного научного центра гигиены и общественного здоровья Роспотребнадзора, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, grebnyuk_an@mail.ru

из числа зарегистрированных случаев острых отравлений алкоголем, что обуславливает актуальность поиска новых фармакологических препаратов для лечения отравлений этанолом [2].

В настоящий момент в качестве средств, корригирующих патологические состояния химической этиологии, активно внедряются пептидные препараты, к числу которых относятся исследованные в настоящей работе препараты моликсана и семакс. Интерес фармакологов и токсикологов к пептидным препаратам объясняется их высокой активностью, отсутствием выраженных побочных эффектов при применении в терапевтических дозах, отсутствием феноменов привыкания и отмены при относительно длительном курсе лечения [3, 4]. В проведенных нами ранее исследованиях показано, что комбинация моликсана и семакса при моделировании интоксикаций этиловым спиртом в различных дозах обладает лечебной эффективностью по критериям выживаемости и индекса защиты [5, 6].

Анализ литературных данных показывает, что введение больших доз этанола вызывает образование активных форм кислорода, что является одним из механизмов развития гепатаргии и острой церебральной недостаточности [7, 8]. Однако, сведения о влиянии моликсана и семакса на биохимические показатели сыворотки крови, а также на показатели системы глутатиона и перекисного окисления липидов, характеризующие эти состояния, в литературе не представлены.

В связи с этим, *целью исследования* явилось изучение биохимического статуса крыс по показателям сыворотки крови, гомогенатов печени и головного мозга при остром тяжёлом отравлении этиловым спиртом и фармакологической коррекции этого состояния комбинацией моликсана с семаксом.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования выполнены на 62 белых аутбредных крысах-самцах массой 200–220 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животных содержали в однопольных группах 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. При проведении исследования выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [9] и правил лабораторной практики (Приказ МЗСР РФ от 23 августа 2010 г № 708н).

В качестве токсиканта использовали 40% водный раствор этанола, который вводили внутривентрикулярно при помощи зонда в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ (12,0 г/кг). В связи с большим объемом вводимого рас-

твора указанную дозу делили поровну на два введения через 15 мин.

Моликсан представлял собой прозрачный или слабо окрашенный, без запаха или со слабым запахом уксусной кислоты 3% раствор производства ЗАО «Фарма ВАРМ» (г. Санкт-Петербург). Моликсан относится к классу пептидных препаратов и представляет собой органическую соль, включающую инозин (пуриновый компонент) и окисленный глутатион (пептидный компонент) в соотношении 1:1. Официальный препарат моликсана перед началом эксперимента разводили в физиологическом растворе и вводили в виде 0,3% раствора внутривентрикулярно в дозе 30 мг/кг.

Семакс представлял собой 1% раствор назальных капель производства ЗАО «Инновационный научно-производственный центр «Пептоген» (г. Москва). Препарат представляет собой гексапептид – аналог фрагмента 4-10 адренокортикотропного гормона. Семакс вводили интраназально в дозе 3 мг/кг.

Препараты применяли двукратно, используя лечебно-профилактическую схему введения: за 1 ч до и сразу после введения этанола.

Животные были разделены на 3 группы: 1-я – интактные животные, которых не подвергали никаким фармакологическим и токсическим воздействиям (группа «интактные»); 2-я – животные, которым вводили этанол и физиологический раствор в объемах, равных вводимым препаратам (группа «этанол»); 3-я – животные, которым вводили этанол и моликсан с семаксом (группа «этанол + моликсан + семакс»).

Оценку эффективности моликсана и семакса проводили через 3 ч, 1 и 3 сут после введения этанола в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ путем определения в сыворотке крови крыс концентрации общего белка, холестерина, глюкозы, мочевины, креатинина, активности аспаратаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Кроме того, в эти же сроки в гомогенатах печени и головного мозга крыс определяли содержание восстановленного глутатиона (ВГ) и малонового диальдегида (МДА).

Оценку концентрации мочевины, общего белка, креатинина, глюкозы, холестерина, а также активности АлАТ, АсАТ, ЩФ и ЛДГ в сыворотке крови крыс проводили на биохимическом анализаторе «BS-120» (Mindray, Китай) с помощью набора реактивов «Ольвекс» (Россия). Концентрацию общего белка в сыворотке крови выражали в г/л; концентрацию холестерина, глюкозы, мочевины – в ммоль/л; концентрацию креатинина – в мкмоль/л; активность АсАТ, АлАТ, ЩФ и ЛДГ – в Ед/л.

Концентрацию ВГ определяли с использованием 5,5-дителиобис(2-нитробензойной кислоты)

по методике G.L. Ellman [10] в модификации, заключающейся в осаждении белка 20% раствором сульфосалициловой кислоты. Содержание МДА определяли по методу M. Uchiyama [11]. Концентрацию МДА и ВГ выражали в мкмоль/г ткани.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные подвергали стандартной статистической обработке в программе «Excel for Windows» с расчетом среднего значения (M) и ошибки среднего (m_x). Выборка для каждой экспериментальной группы животных составила не менее 6 особей. Данные во всех таблицах представлены в виде $M \pm m_x$. Оценку различий средних значений проводили непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни [12]. Вероятность $p \leq 0,05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных данных.

Результаты и обсуждение. Введение этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀ приводило к возникновению у животных крайне тяжелой степени интоксикации.

Введение пептидных препаратов способствовало снижению развития нарушений неврологических и вегетативных функций, увеличивая выживаемость.

Установлено, что острое тяжелое отравление этанолом сопровождалось изменениями содержания общего белка, мочевины, холестерина, глюкозы, а также активности АлАТ, АсАТ, ЩФ и ЛДГ в сыворотке крови отравленных животных (табл. 1-2).

Показатели общего белка и мочевины сыворотки крови животных группы «этанол» и крыс, получавших комбинацию пептидных препаратов, умеренно снижались на 1 сут после введения этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀. Содержание креатинина и холестерина под влиянием этанола практически не изменялось (табл. 1).

Введение этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀ вызывало снижение содержания глюкозы через 3 ч и 1 сут. При лечебно-профилактическом введении моликсана и семакса содержание глюкозы в сыворотке

Таблица 1

Влияние сочетанного применения моликсана и семакса на показатели белкового, углеводного и жирового обмена у крыс при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом

Группа (число животных)	Сроки исследования после введения этанола	Белковый обмен			Углеводный обмен	Жировой обмен
		Общий белок, г/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
Интактные (n=20)	-	64,9±1,4	9,9±0,5	65,9±1,7	5,4±0,2	2,0±0,1
Этанол (n=6)	3 ч	62,2±3,4	9,3±0,8	60,2±3,0	3,6±0,1*	1,7±0,1
Этанол+ Моликсан+ Семакс (n=6)		62,6±2,5	9,5±0,4	63,5±3,1	4,4±0,2*#	1,6±0,2
Этанол (n=6)	1 сут	47,9±2,4*	6,6±1,2*	69,1±3,2	3,3±0,1*	2,5±0,2
Этанол+ Моликсан+ Семакс (n=8)		48,4±1,6*	7,3±1,3*	65,5±1,9	4,7±0,2#	2,7±0,1*
Этанол (n=6)	3 сут	61,6±4,9	9,2±0,9	64,5±4,94	6,1±0,2	2,5±0,2
Этанол+ Моликсан+ Семакс (n=9)		64,3±3,3	9,5±0,7	70,2±8,3	5,9±0,3	2,6±0,4

Примечания:

* – различие с группой «интактные», $p \leq 0,05$;

– различие с группой «этанол», $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Влияние сочетанного применения моликсана и семакса на активность ферментов сыворотки крови крыс при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом, Ед/л

Группа (число животных)	Сроки исследования после введения этанола	Исследуемые ферменты			
		АлАТ	АсАТ	ЩФ	ЛДГ
Интактные (n=20)	-	178,8±5,6	85,9±1,8	414,4±7,8	660,1±19,0
Этанол (n=6)	3 ч	269,2±7,3*	152,2±9,8*	523,3±10,4*	1881,9±50,4*
Этанол+Моликсан+Семакс (n=6)		187,1±10,8#	94,9±2,9#	458,5±10,4*#	1059,7±33,5*#
Этанол (n=6)	1 сут	322,8±18,2*	176,1±9,6*	787,4±14,9*	2130,5±102,9*
Этанол+Моликсан+Семакс (n=8)		224,1±12,3*#	96,8±5,3#	476,3±14,6*#	1360,6±74,6*#
Этанол (n=6)	3 сут	216,8±5,7*	100,9±4,9*	456,8±15,0*	1280,7±29,4*
Этанол+Моликсан+Семакс (n=9)		198,3±9,4	92,7±4,1	410,1±24,3	1053,8±42,4*#

Примечание:

* - различие с группой «интактные», $p \leq 0,05$;

- различие с группой «этанол», $p \leq 0,05$.

через 3 ч после введения этилового спирта было больше, чем в группе «этанол», а к 1 сут наблюдения не отличалось от среднего показателя, полученного у интактных животных (табл. 1).

Активность АлАТ в сыворотке крови животных, подвергшихся интоксикации этанолом в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$, увеличивалась через 3 ч, 1 сут и 3 сут в 1,5; 1,8 и 1,2 раза соответственно (табл. 2). Сочетанное применение моликсана и семакса позволяло в 1,2-1,5 раза снизить активность этого фермента по сравнению с группой «этанол» практически до значений интактных животных через 3 ч и 3 сут после отравления.

Активность АсАТ в сыворотке крыс из группы «этанол» в те же временные промежутки превышала в 1,8; 2 и 1,2 раза значения активности фермента у интактных животных (табл. 2). Лечение-профилактическое применение моликсана и семакса в 1,5 раза снижало степень активности АсАТ к 3 ч наблюдения, а через 1 сут – в 2 раза по сравнению с группой «этанол». Следует отметить, что у получавших пептидные препараты

крыс воздействие этанола практически не изменяло активности АсАТ по сравнению с интактными животными.

Острое крайне тяжелое отравление этанолом также сопровождалось увеличением активности ЩФ и ЛДГ в сыворотке крови животных в течение 3 сут наблюдения (табл. 2). Сочетанное применение пептидных препаратов снижало интенсивность процессов, приводящих к повышению содержания данных ферментов в сыворотке крови, в течение всего периода наблюдения. При этом во все сроки наблюдения активность ЩФ у отравленных этанолом крыс, получавших пептидные препараты, оставалась на уровне интактных животных, а активность ЛДГ была значительно (в 1,5-2 раза) ниже, чем у нелеченых крыс.

Воздействие этанола в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ приводило к снижению содержания ВГ в тканях печени (табл. 3). Применение моликсана и семакса позволяло снизить выраженность этого процесса через 3 ч и 1 сут после введения этанола, а через

3 сут сохраняло количество ВГ на уровне интактных животных.

Аналогичная картина наблюдалась и в тканях головного мозга: воздействие этанола приводило практически к двукратному снижению содержания ВГ во все сроки наблюдения, а лечебно-профилактическое применение пептидных препаратов позволяло в значительной степени предотвращать этот процесс (табл. 3). В частности, содержание ВГ в тканях головного мозга крыс, получавших моликсан и семакс во все сроки наблюдения после введения этанола было в 1,3 раза выше, чем в группе сравнения («этанол»).

Установлено также, что введение этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀ увеличивало содержание МДА в тканях печени крыс через 3 ч и 1 сут после начала интоксикации в 1,8 раз (табл. 4). Сочетанное применение пептидных препаратов позволило снизить концентрацию МДА в указанные сроки в среднем на 30%.

В головном мозге повышение концентрации МДА также наблюдали через 3 ч и 1 сут после введения этанола (табл. 4). Особенно выраженное (в 2,3 раза) уровня МДА в тканях головного мозга наблюдали на 1 сут алкогольной интоксикации. Лечебно-профилактическое введение пептидных препаратов снижало содержание МДА в головном мозге через 3 ч – на 10%, а через 1 сут по сравнению с группой «этанол».

Изменение содержания общего белка, мочевины, креатинина и холестерина в крови при острых алкогольных интоксикациях имеет важное диагностическое значение, потому что отражает нарушения синтетической функции печени. В ходе проведенных нами исследований было установлено, что содержание общего белка и мочевины в сыворотке крови животных, отравленных этанолом (как получавших лечение, так и не получавших пептидные препараты), умеренно снижались на 1 сут после начала интоксикации.

Исследование уровня сывороточной глюкозы позволило выявить некоторые особенности патфизиологических процессов, возникающих после введения этилового спирта. Известно, что продукты окисления этанола способствуют накоплению кислых продуктов, что ведет к сдвигу рН в кислую сторону и нарушению работы ферментативных систем [7, 13, 14]. В этом контексте, снижение содержания глюкозы через 3 ч и 1 сут после введения спирта могло отражать «антиферментное» действие высоких доз этанола на системы, занятые в утилизации глюкозы по аэробному пути окисления. Сочетанное применение пептидных препаратов способствовало поддержанию обмена глюкозы, так как было выявлено, что через 3 ч после начала исследования ее содержание отличалось в 1,3 раза по сравнению с группой «этанол», а к 1 сут возвра-

Таблица 3

Влияние сочетанного применения моликсана и семакса на содержание восстановленного глутатиона в гомогенатах печени и головного мозга крыс при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом, мкмоль/г

Группа	Орган	Срок исследования		
		3 ч	1 сут	3 сут
Интактные	Печень	14,28±0,34 (n=6)	14,46±0,57 (n=6)	14,16±0,37 (n=8)
Этанол		5,17±0,29* (n=6)	9,32±0,60* (n=6)	9,96±0,59* (n=6)
Этанол+Моликсан+Семакс		6,95±0,48*# (n=6)	12,43±0,71*# (n=8)	14,09±1,20# (n=9)
Интактные	Головной мозг	4,56±0,22 (n=6)	4,77±0,34 (n=6)	4,27±0,14 (n=8)
Этанол		2,34±0,20* (n=6)	2,80±0,19* (n=6)	2,92±0,24* (n=6)
Этанол+Моликсан+Семакс		3,02±0,23* (n=6)	3,70±0,18*# (n=8)	3,89±0,16# (n=9)

Примечание:

* – различие с группой «интактные», $p \leq 0,05$;

– различие с группой «этанол», $p \leq 0,05$.

щало к нормальным значениям.

Ингибирование этанолом ферментов цикла Кребса имеет важное патогенетическое значение, поскольку ведет к развитию энергодифицита за счет увеличения доли анаэробного окисления, а так же к снижению активности антиоксидантных систем, что создает условия для возникновения окислительного стресса, проявляющегося усилением процесса перекисного окисления липидов [8, 15].

Исследование подтвердило наличие цитотоксических процессов в печени уже в самом начале интоксикации этанолом, которые проявились увеличением активности АЛАТ и АсАТ в сыворотке крови, то есть цитолитическим синдромом, максимально выраженным на 1 сут исследования. Также интоксикация этанолом сопровождалась повышением сывороточной активности ЩФ в 2 раза, что является маркером умеренно выраженного холестаза [16]. Применение моликсана в составе комбинации с семаксом позитивно влияло на динамику токсического процесса в печени, снижая уровень маркеров повреждения в 1,5 раза в зависимости от сроков исследования и может расцениваться как гепатопротекторный эффект.

Возникновение в ходе алкогольной интоксикации таких типовых патологических процессов как усиленное образование различных

биологических окислителей и ацидоз обуславливает более детальное рассмотрение антиоксидантных возможностей органов-мишеней и степень их коррекции исследуемыми препаратами. По мнению ряда авторов, глутатион-зависимая антиоксидантная система является ведущей в обеспечении гомеостаза клеток и критической при интоксикациях, связанных с нарушением систем энергообеспечения тканей, ввиду лимитирования его обратного восстановления из окисленных форм [17,18]. Истощение резервов восстановленного глутатиона коррелирует с неврологическими нарушениями, нарушениями гемодинамики и детоксикационной функции печени при отравлении веществами седативно-гипнотического действия [20]. Было установлено, что этиловый спирт в дозе 1,5 ЛД₅₀ вызывает у крыс снижение содержания ВГ в головном мозге и в печени. Полученные результаты характеризуют крайнюю степень тяжести состояния отравленных крыс, поскольку имеются данные, что снижение уровня ВГ до 20-30% от исходных значений при острых экспериментальных отравлениях этанолом у данного вида животных сопровождается резким снижением вероятности благоприятного прогноза [18].

Анализ динамики содержания МДА в экспериментальных группах позволяет судить о харак-

Таблица 4

Влияние сочетанного применения моликсана и семакса на содержание малонового диальдегида в гомогенатах печени и головного мозга крыс при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом, мкмоль/г

Группа	Орган	Срок исследования		
		3 ч	1 сут	3 сут
Интактные	Печень	4,18±1,44 (n=6)	4,49±1,02 (n=6)	4,57±1,02 (n=8)
Этанол		7,56±0,18* (n=6)	8,17±0,42* (n=6)	4,89±0,32 (n=6)
Этанол+Моликсан+Семакс		5,23±0,83# (n=6)	5,49±0,32# (n=8)	4,41±0,26 (n=9)
Интактные	Головной мозг	7,25±0,33 (n=6)	6,90±0,53 (n=6)	6,69±0,25 (n=8)
Этанол		9,88±0,81* (n=6)	16,14±0,88* (n=6)	6,73±0,21 (n=6)
Этанол+Моликсан+Семакс		8,50±0,33* (n=6)	10,22±0,97*# (n=8)	6,54±0,18 (n=9)

Примечание:

* - различие с группой «интактные», $p \leq 0,05$;

- различие с группой «этанол», $p \leq 0,05$.

тере процессов пероксидации в тканях печени и головного мозга, а также степени их коррекции исследуемыми пептидами. Накопление конечных продуктов перекисного окисления, реагирующих с ТБК, наиболее выраженное на 1 сут исследования, отражает недостаточность антиоксидантной системы отравленных этанолом животных. Необходимо отметить, что уровень МДА в головном мозге крыс был выше, чем в печени в 1,5-2 раза, что вероятно, является следствием меньшего содержания ВГ в мозге, концентрация которого в группе «интактные» была ниже печеночной в 3 раза, и отражает крайнюю степень восприимчивости нервной ткани к гипоксии, вызванной введением этанола [20]. Экспериментальная терапия моликсаном и семаксом снижала выраженность депрессии уровня ВГ и накопления МДА, что может рассматриваться в качестве антиоксидантного эффекта и требует дальнейшего детального изучения.

Учитывая, что окисленный глутатион в составе моликсана не проникает внутрь клетки, этот эффект может быть обусловлен восстановлением поверхностно-клеточных рецепторов, содержащих сульфгидрильные группы, которые как известно, повреждаются в условиях ацидоза и повышенной пероксидации, что ведет к снижению реактивности при межклеточном взаимодействии и регуляции деятельности гуморальными факторами. Также полученные эффекты моликсана могут быть определены пуриновым компонентом, а значит, его можно рассматривать как метаболическое средство, так как при взаимодействии инозина с фосфорной кислотой образуется ряд соединений-макроэргов.

Вклад семакса в развитие снижения повреждения печени в условиях острой алкогольной интоксикации может быть обусловлен его цен-

тральными эффектами в виде снижения нарушений в регуляции сердечно-сосудистой и дыхательных систем [5, 21]. Так же эффективность пептида может быть следствием его периферического влияния, опосредованного афинностью семакса к мелатониновым МС-5 рецепторам, экспрессируемым на некоторых гепатоцитах [22, 23, 24].

Полученные данные служат очередным свидетельством полифункционального характера физиологических эффектов регуляторных пептидов, к которым могут быть отнесены моликсан и семакс. Одним из механизмов действия данных препаратов при острой тяжелой интоксикации этанолом может быть уменьшение окислительного стресса, которое отражается снижением интенсивности проявления гепатопатии.

Выводы.

1. Острое тяжелое отравление этиловым спиртом в дозе 1,5 ЛД₅₀ сопровождается нарушением углеводного обмена, снижением содержания восстановленного глутатиона в печени и головном мозге, максимально выраженным через 3 ч после введения спирта, и увеличением концентрации малонового диальдегида, наибольшие значения которого зафиксированы к концу 1 сут, а также сопровождается цитолитическим и холестатическим синдромами.

2. Лечебно-профилактическое введение моликсана (30 мг/кг) и семакса (3 мг/кг) при интоксикации этанолом в дозе 1,5ЛД₅₀ позволяет уменьшить выраженность активации ферментов АлАТ, АсАТ, ЩФ и ЛДГ в сыворотке крови.

3. Моликсан и семакс снижают выраженность этанол-индуцированного окислительного стресса, препятствуя избыточному накоплению МДА и сохраняя уровень ВГ в тканях печени и головного мозга отравленных крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Доклад федеральной службы государственной статистики «Продажа алкогольных напитков в регионах Российской Федерации». Доступно на сайте: <http://www.gks.ru/dbscripts/cbsd/dbinet.cgi?pl=2705014>. (Дата обращения 09 января 2016).
2. Бонитенко Е.Ю., ред. Клиника, диагностика, лечение, судебно-медицинская экспертиза отравлений алкоголем и его суррогатами: Пособие для врачей. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2013.
3. Головки А.И., Иванов М.Б., Башарин В.А., Носов А.В. Терапевтическая эффективность церебролизина и пирацетама при закрытой черепно-мозговой травме у крыс на фоне острой интоксикации этанолом. Биомед. журн. Medline.ru. 2011; 4: 482-5.
4. Shih-Jen T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4–10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome. Med. hypotheses. 2007; 68: 1144-6.
5. Гребенюк А.Н., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Халютин Д.А. Сравнительная оценка эффективности пептидных препаратов при острых тяжелых отравлениях этанолом. Токс. вестник. 2014; 6: 15-22.
6. Гребенюк А.Н., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Халютин Д.А., Маркосян А.М. Эффективность нейропептида и гепатопротекторов пептидной и непептидной природы в терапии острых крайне тяжелых отравлений этиловым спиртом. Вестн. Рос. Воен.-мед. академии. 2014; 1: 136-41.
7. Головки А.И. Отрезвляющие средства, изменяющие токсикодинамику этанола. Биомед. химия. 2013; 6 (59): 604-21.
8. Цыган В.Н., Камилова Т.А., Скальный А.В., Цыган Н.В., Долго-Сабуров В.Б. Патопфизиология клетки. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2014.
9. Хельсинская декларация. Всемирная медицинская ассоциация. М.; 2001.
10. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 1959; 82 (1): 70-77.
11. Ushiyama M., Michara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal. Biochem. 1978; 1: 271-8.
12. Кувакин В.И., Иванов В.В., ред. Военно-медицинская статистика. СПб.: ВМедА; 2005.
13. Forsyth C., Farhadia A., Jakatea S., Tanga Y., Shaikha M., Keshavarziana A. Lactobacillus GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in a rat model of alcoholic steatohepatitis. Alcohol. 2009; 43: 163-72.
14. Warner E., Schrum L., Schmidt C., McMillon I. Rodent models of alcoholic liver disease: Of mice and men. Alcohol. 2012; 46: 715-25.
15. Rocha M., Hernandez-Mijares A., Garcia-Malpartida K., Banuls C., Bellod L., Victor V. Mitochondria-targeted antioxidant peptides. Curr. Pharm. Des. 2010; 16 (28): 3124-31.
16. Stöckel F., Seitz H.K. Alcoholic steatohepatitis. Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 2010; 5: 683-93.
17. Root-Bernstein R., Fawcens J., Rhinesmith T., Koch A., Dillon P.F. Enzymatic recycling of ascorbic acid from dehydroascorbic acid by glutathione-like peptides in the extracellular loops of aminergic G-protein coupled receptors. J. Mol. Recognition. 2016; 1. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmr.2530/pdf>. (Accessed 10 January 2016).
18. Тиунов Л.А., Иванова В.А. Роль глутатиона в процессах детоксикации. Вест. АМН СССР. 1988; 1: 62-9.
19. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона. Успехи биол. химии. 1990; 31: 157-79.
20. Ливанов Г.А., Карпищенко А.И., Глушков С.И., Куценко С.А., Носов А.В. Состояние глутатионзависимой антирадикальной системы и процессов перекисного окисления липидов в различных тканях лабораторных животных при острых отравлениях тиопенталом натрия. Токс. вестник. 2002; 1: 11-7.
21. Steiner J.P., Nath A. Neurotrophin strategies for neuroprotection: are they sufficient? J. Neuroimmune Pharmacol. 2014; 2: 182-94.

22. Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф., Левицкая Н.Г. Исследование спектра физиологической активности аналога АКГГ 4-10 гептапептида семакс. *Нейрохимия*. 2008; 1-2: 111-8.

23. Бобынцев И.И., Крюков А.А., Шепелева О.М., Иванов А.В. Влияние пептида АКГГ 4-7-ПГП на перекисное окисление липидов в печени крыс и активность сывороточных трансами-

наз в условиях иммобилизационного стресса. *Эксп. и Клин. Фарм.* 2015; 78 (8): 18-21.

24. Shajari S., Laliene A., Heegsma J., Tunon M., Moshage H., Faber K.N.

Melatonin suppresses activation of hepatic stellate cells through ROR α -mediated inhibition of 5-lipoxygenase. *J. Pineal. Res.* 2015; 59 (3): 391-401.

REFERENCES:

1. Doklad federal'noj sluzhby gosudarstvennoj statistiki «Prodzha alkogol'nyh napitkov v regional Rossijskoj Federacii». Available at: <http://www.gks.ru/dbscripts/cbsd/dbinet.cgi?pi=27050> (Accessed 09 January 2016) (in Russian).
2. Bonitenko E.Yu., red. Klinika, diagnostika, lechenie, sudebno-medicinskaya ehkspertiza otravlenij alkogolem i ego surrogatami: Posobie dlya vrachej. SPb.: ELBI-SPb; 2013. (in Russian).
3. Golovko A.I., Ivanov M.B., Basharin V.A., Nosov A.V. Terapevticheskaya ehffektivnost' cerebrolizina i piracetama pri zakrytoj cherepno-mozgovoj travme u krysa na fone ostroj intoksikacii ehthanolom. *Biomedicinskiy zhurnal Medline.ru*. 2011; 4: 482-5. (in Russian).
4. Shih-Jen T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4-10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome. *Med. hypotheses*. 2007; 68: 1144-6.
5. Grebenyuk A.N., Reynyuk V.L., Antushevich A.E., Halyutin D.A. Sravnitel'naya ocenka ehffektivnosti peptidnyh preparatov pri ostryh tyazhelyh otravleniyah ehthanolom. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2014; 6: 15-22.
6. Grebenyuk A.N., Reynyuk V.L., Antushevich A.E., Halyutin D.A., Markosyan

A.M. Effektivnost' nejropeptida i gepatoprotektorov peptidnoj i nepeptidnoj prirody v terapii ostryh krajne tyazhelyh otravlenij ehtilovym spirtom. *Vestnik Rossiyskoy Voenno-medicinskoy akademii*. 2014; 1: 136-41. (in Russian).
7. Golovko A.I. Otrezvyayushchie sredstva, izmenyayushchie toksidinamiku ehthanola. *Biomedicinskaya khimiya*. 2013; 6 (59): 604-21 (in Russian).
8. Cygan V.N., Kamilova T.A., Skal'nyj A.V., Cygan N.V., Dolgo-Soburov V.B. Patofiziologiya kletki. SPb: ELBI-SPb; 2014. (in Russian).
9. Hel'sinskaya deklaraciya. Vsemirnaya medicinskaya asociaciya. M.; 2001. (in Russian).
10. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959; 82 (1): 70-77.
11. Ushiyama M., Michara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 1978; 1: 271-8.
12. Kuvakin V.I., Ivanov V.V., red. Voenno-medicinskaya statistika. SPb.: Voenno-medicinskayay akademiya; 2010. (in Russian).
13. Forsyth C., Farhadia A., Jakatea S., Tanga Y., Shaikha M., Keshavarziana A. Lactobacillus GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in

a rat model of alcoholic steatohepatitis. *Alcohol*. 2009; 43: 163-72.
14. Warner E., Schrum L., Schmidt C., McKillop I. Rodent models of alcoholic liver disease: Of mice and men. *Alcohol*. 2012; 46: 715-25.
15. Rocha M., Hernandez-Mijares A., Garcia-Malpartida K., Banuls C., Bellod L., Victor V. Mitochondria-targeted antioxidant peptides. *Curr. Pharm. Des.* 2010; 16 (28): 3124-
16. Stickele F., Seitz H.K. Alcoholic steatohepatitis. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2010; 5: 683-93.
17. Root-Bernstein R., Fewins J., Rhinesmith T., Koch A., Dillon P.F. Enzymatic recycling of ascorbic acid from dehydroascorbic acid by glutathione-like peptides in the extracellular loops of aminergic G-protein coupled receptors. *J. Mol. Recognition*. 2016; Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmr.2530/pdf> (Accessed 10 January 2016).
18. Tiunov L.A., Ivanova V.A. Rol' glutatona v processah detoksikacii. *Vestnik AMN SSSR*. 1988; 1: 62-9.
19. Kulinskij V.I., Kolesnichenko L.S. Obmen glutatona. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 1990; 31: 157-79 (in Russian).
20. Livanov G.A., Karpishchenko A.I., Glushkov S.I., Kucenko S.A., Nosov A.V. Sostoyanie glutatonzavisimoy

antiradikal'noj sistemy i processov perekisnogo okisleniya lipidov v razlichnyh tkanyah laboratornyh zhivotnyh pri ostryh otravleniyah tiopentalom natriya. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2002; 1: 11-7. (in Russian).
21. Steiner J.P., Nath A. Neurotrophin strategies for neuroprotection: are they sufficient? *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2014; 2: 182-94.
22. Kamenskij A.A., Myasoedov N.F., Levickaya N.G. Issledovanie spektra fiziologicheskoy aktivnosti analoga AKGГ 4-10 гептапептида семакс. *Нейрохимия*. 2008; 1-2: 111-8. (in Russian).
23. Bobyntsev I.I., Kryukov A.A., Shepeleva O.M., Ivanov A.V. Vliyaniye peptida AKGГ 4-7-PPG na perekisnoe okislenie lipidov v pecheni krysa i aktivnost' sывороточnyh transaminaz v usloviyah иммобилизационного стресса. *Экспериментальная и Клиническая Фармакология*. 2015; 78 (8): 18-21. (in Russian).
24. Shajari S., Laliene A., Heegsma J., Tunon M., Moshage H., Faber K.N. Melatonin suppresses activation of hepatic stellate cells through ROR -mediated inhibition of 5-lipoxygenase. *J. Pineal. Res.* 2015; 59 (3): 391-401

D.A. Halyutin¹, R.A. Tarumov^{1,2}, A.A. Hovpachev¹, V.L. Reynyuk¹, A.E. Antushevich¹, A.N. Grebenyuk^{1,3}

THE INFLUENCE OF PEPTIDE PREPARATIONS ON BIOCHEMICAL INDICES OF RAT BLOOD SERUM, BRAIN AND LIVER AT ACUTE ETHANOLPOISONING

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

²637th Center of State Sanitary and Epidemiological Surveillance, Ministry of Defense of the Russian Federation, 299028, Sevastopol, Russian Federation

³North-West 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 the investigation into biochemical indices of blood serum, liver and brain homogenates of rats at acute ethyl alcohol poisoning, using peptide preparations molixan and semax are reported. 40 % ethanol solution was intragastrically administrated in a dose of 12 g/kg that corresponds to 1.5 LD₅₀. Molixan was administered intraabdominally in a dose of 30 mg/kg and semax intranasally in a dose of 3 mg/kg. The preparations efficacy was evaluated using of therapeutic and prophylactic (an hour before and just after administration of ethanol) application scheme. The evaluation of biochemical parameters was performed 3 hours, 1 day and 3 days after modeling of the alcohol intoxication. It was found out that acute ethanol poisoning induced cytolytic and cholestatic hepatitis syndromes in poisoned animals, as well as increased oxidative stress processes which varied time-dependently after administration of ethanol. The therapeutic and preventive application of molixan and semax had a positive impact on the dynamics of indicators characterizing metabolism, hepatic cytolysis and increased the amount of reduced glutathione and significantly lowered malondialdehyde in the tissues of poisoned animals as well.

Keywords: ethanol, poisoning, peptides, molixan, semax, blood biochemical indices, reduced glutathione, malondialdehyde.

Переработанный материал поступил в редакцию 19.02.2016 г.

УДК 57.085.2

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ КИСЛОТ ДЛЯ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

А.С. Богачева^{1,2}, Е.В. Полозова^{1,2}, И.Н. Ключкин³

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

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

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», в г. Санкт-Петербург в Московском, Фрунзенском, Пушкинском, Колпинском районах и г. Павловске, 196653, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Проведена экспериментальная оценка возможности использования одноклеточных организмов: люминесцентных бактерий, инфузорий *Tetrahimena pyriformis* и сперматозоидов крупного рогатого скота в качестве тест-объектов для оценки токсичности кислот.

Установлено, что анализируемые биотесты имеют высокую чувствительность к токсическому действию кислот. Показано, что люминесцентные бактерии, инфузории *Tetrahimena pyriformis* и сперматозоиды крупного рогатого скота могут успешно использоваться в качестве методов ускоренной оценки загрязнений окружающей и производственной среды кислотами.

Ключевые слова: биотестирование, тест-объект, люминесцентные бактерии, *Tetrahimena pyriformis*, сперматозоиды крупного рогатого скота, кислоты.

Введение. В настоящее время актуальным вопросом является изучение возможности применения биотестов для оценки загрязнений производственной и окружающей среды, среди которых наиболее важным объектом является вода [5]. Биологические тесты играют особую роль в оценке производственной и окружающей среды, поскольку результаты химического анализа, проводимого с помощью сложного аналитического оборудования, во многих случаях не позволяют оценить истинную опасность тех или иных загрязнителей для среды обитания, прогнозировать последствия их воздействия на живые организмы. Кроме этого многообразные загрязняющие вещества, попадая в окружающую среду, могут претерпевать в ней различные превращения, усиливая при этом своё токсическое действие [1,2,3,4].

Именно методы биотестирования позволяют оценить интегральный характер воздействия на окружающую среду всей совокупности загрязнителей, что необходимо для формирования тактики комплексной оценки качества производственной и окружающей среды.

При выборе организмов в качестве тест-объектов приходится соблюдать определённые требования, среди которых возможность фиксировать чёткий, воспроизводимый и объективный отклик на воздействие внешних факторов, чувствительность этого отклика на малые содержания загрязнителей и т. д. Поэтому в качестве биотестов выбирают наиболее чувствительные к исследуемым загрязнителям организмы [5,6].

В связи с этим данная работа посвящена изучению сравнительной чувствительности различных биологических тест-объектов (люминесцентных бактерий, инфузорий *Tetrahimena pyriformis* и сперматозоидов крупного рогатого скота) к воздействию кислот (соляной, ортофосфорной и уксусной).

Материалы и методы исследования. Объектами исследования явились: лиофилизированная культура люминесцентных (светящихся) бактерий; инфузории *Tetrahimena pyriformis* (*T.pyriformis*) и сперма крупного рогатого скота. В экспериментах использовали различные концентрации кислот (соляной, ортофосфорной и уксусной).

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@list.ru

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

Ключкин Иван Николаевич (Kluskins Ivan Nikolaevich), заведующий отделением коммунальной гигиены – врач по коммунальной гигиене Филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в г. Санкт-Петербург в Московском, Фрунзенском, Пушкинском, Колпинском районах и г. Павловске, 196653, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, gupper10@yandex.ru

Чувствительность сперматозоидов к действию химических веществ определяли по методу Двоскина Я.Г. (2002) [2]. Принцип метода основан на изменении зависимости двигательной активности сперматозоидов от воздействия химических соединений. Для определения чувствительности сперматозоидов к химическим веществам готовили различные концентрации исследуемых жидкостей и помещали в них тест-объект – сперму крупного рогатого скота, замороженную в парах жидкого азота, предварительно разморозив и активировав в растворе цитрата натрия. Оценку показателя подвижности осуществляли путём подсчёта изменений интенсивности светового потока при движении сперматозоидов через оптический зонд при помощи специального аналитического прибора. Все результаты выводятся на монитор компьютера. Результаты выражали в единицах токсичности (ИТ, %) и рассчитывали EC_{50} , мг/л.

Изучение чувствительности люминесцентных бактерий к кислотам проводили по методу Сулова А.Н., Данилова В.С. (1996) с помощью прибора «Биотокс» [5]. Метод определения токсичности основан на способности люминесцентных бактерий изменять величину интенсивности биолюминесценции при действии токсических соединений, содержащихся в тестируемой пробе, по сравнению с контролем. Интенсивность свечения данного тест-объекта обусловлена изменением его физиолого-биохимических функций, в т.ч. изменением активности фермента бактериальной люциферазы, ответственного за интенсивность биолюминесценции. Во флакон с лиофилизированным биореагентом добавляли 10 мл бидистиллированной воды для получения суспензии бактерий. Исследуемое вещество разливали в пробирки по 0,9 мл, в которые затем добавляли по 0,1 мл рабочей суспензии бактерий. Время экспозиции составляло 40 минут, после чего измеряли интенсивность биолюминесценции бактерий с помощью прибора «Биотокс». Контролем служила культура бактерий в количестве 0,1 мл, разведённая в 0,9 мл дистиллированной воды. Критерием токсического действия явилось изменение интенсивности биолюминесценции

тест-объекта в исследуемой пробе по сравнению с контролем. Уменьшение интенсивности биолюминесценции пропорционально токсическому эффекту. Результаты выражали в единицах токсичности (ИТ, у.е.) и рассчитывали EC_{50} , мг/л.

Токсичность исследуемых растворов химических веществ при помощи инфузорий *Tetrahimena pyriformis* определяли по методу Ирлиной И.С. в нашей модификации (1998) [3]. Принцип метода основан на оценке выживаемости 2-х суточной культуры *Tetrahimena pyriformis* в растворах различной концентрации кислот. Для исследований использовались аксеничные культуры. «Музейная» культура получена из лаборатории цитологии одноклеточных организмов Института цитологии РАН. К 0,1 мл изучаемого вещества в убывающих концентрациях добавляли такое же количество 2-х суточной культуры тетрахимен. Время инкубации составило 30 мин при комнатной температуре. Подсчёт фиксированных клеток производили в камере Горяева. Контролем служила культура *Tetrahimena pyriformis* в количестве 0,1 мл в таком же количестве дистиллированной воды. Рассчитывали процент погибших клеток в каждом разведении по отношению к контролю. Расчёт производили методом пробит-анализа. Результаты выражали в величинах концентрации исследуемых веществ, вызывающей гибель половины простейших в пробе (EC_{50} , мг/л).

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований представлены в таблице.

Согласно представленным данным, все исследуемые тест-объекты обладают чувствительностью к кислотам. В то же время исследуемые биологические объекты обладают различной чувствительностью по отношению к исследуемым кислотам. Так, наибольшей чувствительностью к кислотам обладали люминесцентные бактерии. Чувствительность этого тест-объекта ко всем исследуемым химическим веществам в 1,4 – 20,4 раз выше по сравнению с *Tetrahimena pyriformis* и в 21,9 – 610,7 раза больше по сравнению со сперматозоидами. В то же время наибольшей устойчивостью к действию кислот обладал та-

Таблица

Сравнительная оценка токсичности кислот в отношении люминесцентных бактерий, *Tetrahimena pyriformis* и сперматозоидов крупного рогатого скота

Кислоты	Бактерии, EC_{50} , мг/л	<i>T. pyriformis</i> , EC_{50} , мг/л	Сперматозоиды, EC_{50} , мг/л
Ортофосфорная кислота	7,2 ± 0,3	146,2 ± 15,2	4400,4 ± 26,5
Соляная кислота	196,4 ± 16,3	270,3 ± 23,5	4300,7 ± 30,8
Уксусная кислота	146,4 ± 21,2	450,1 ± 28,4	5250,2 ± 48,6

Примечание: * - различие с чувствительностью к уксусной кислоте достоверно ($p < 0,05$).

кой клеточный тест-объект как сперматозоиды крупного рогатого скота, показатели токсичности кислот по отношению к этому тест-объекту находились в пределах 4300 – 5250 ЕС₅₀, мг/л, что в 11,7 – 613,7 раз ниже по сравнению с двумя другими исследуемыми тест-объектами.

Среди анализируемых химических соединений наибольшей токсичностью по отношению к люминесцентным бактериям и тетрахименам обладает ортофосфорная кислота. Так, для люминесцентных бактерий ортофосфорная кислота в 20,3 – 27,3 раза токсичнее, чем уксусная и соляная кислоты соответственно, а по отношению к тетрахименам – в 1,8 – 3,0 раза.

Иная тенденция наблюдалась при исследовании токсичности кислот по отношению к сперматозоидам крупного рогатого скота. По отношению к данному тест-объекту наибольшей токсичностью обладали ортофосфорная и соляная кислоты. Токсичность этих химических соединений не имела достоверно значимых различий по отношению к анализируемому тест-объекту. В то же время токсичность ортофосфорной и соляной кислот по отношению к сперматозоидам была

в 1,2 раза больше по сравнению с уксусной кислотой.

Заключение. Проведенные исследования показали, что изучаемые нами тест-объекты имели высокую чувствительность к кислотам. Наибольшую чувствительность по отношению к кислотам показали люминесцентные бактерии. Тогда как наибольшей устойчивостью к токсическому действию кислот обладали сперматозоиды крупного рогатого скота.

Среди исследуемых кислот наибольшую токсичность по отношению к люминесцентным бактериям и *Tetrahymena pyriformis* проявила ортофосфорная кислота, а по отношению к сперматозоидам крупного скота – ортофосфорная и соляная кислоты. В то же время наименьшее токсическое действие на изучаемые тест-объекты оказала уксусная кислота.

Таким образом, люминесцентные бактерии, инфузории *Tetrahymena pyriformis* и сперматозоиды крупного рогатого скота можно рекомендовать в качестве альтернативных методов ускоренной регламентации химических факторов производственной и окружающей среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богачева А.С., Шилов В.В., Полозова Е.В., Салова Л.С. Исследование токсичности химических веществ с использованием биологических тестов (альтернативных методов) // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2008. – № 1 (21). – С. 23 – 27.
2. Двоскин Я.Г., Меньшикова Т.А., Федосеева Т.А. и др. Оценка токсичности товаров бытовой химии.

3. Ирлина И.С., Меркулова Н.А. Определение токсичности с использованием в качестве тест-объекта *Tetrahymena pyriformis* // Цитология.

4. Методы оценки токсичности с использованием гидробионтов и клеточных культур: учеб. пособие /Е.В. Полозова, В.В. Шилов, Л.С. Салова, Т.Г. Мартинсон, А.С. Богачева. – СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2009. – 68 с.
5. Суслов А.Н., Данилов В.С. Определение токсичности воды и водных экс-

6. Шилов В.В.*., Полозова Е.В., А.С. Богачева Сравнительная оценка токсического эффекта спиртов для биологических тест-объектов (бактерий, тетрахимен и сперматозоидов) // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – № 6. – С. 37–39.

REFERENCES:

1. Bogacheva A.S., Shilov V.V., Polozova E.V., Salova L.S. Issledovanie toksichnosti khimicheskikh veshhestv s ispol'zovaniem biologicheskikh testov (al'ternativnykh metodov) // Vestnik Rossijskoj Voenno-meditsinskoj akademii. – 20- № 1 (21). – S. 23 – (in Russian)
2. Dvoskin YA.G., Men'shikova TA., Fedoseeva TA. i d.r. Otsenka toksichnosti tovarov bytovoj khimii. EHkspress-

3. Irina I.S., Merkulova N.A. Opredelenie toksichnosti s ispol'zovaniem v kachestve test-ob'ekta *Tetrahymena pyriformis* // Citologiya. – 1975. – T.17, № – S.1208 –

4. Metody ocenki toksichnosti s ispol'zovaniem gidrobiontov i kletochnykh kul'tur: ucheb. posobie /E.V. Polozova, V.V. Shilov, L.S. Salova, T.G. Martinson, A.S. Bogacheva. – SPb.: Izd-vo Politekh. un-ta, 20- 68 s. (in Russian)
5. Suslov A.N., Danilov V.S. Opredelenie toksichnosti vody i vodnykh ehkstraktov iz ob'ektov okruzhayushchej sredy po

6. V.V. Shilov., Polozova E.V., A.S. Bogacheva Sravnitel'naya ocenka toksicheskogo ehffekta spirtov dlya biologicheskikh test-ob'ektov (bakterij, tetrahimen i spermatozoidov) // Sibirskij medicinskij zhurnal. – 20- № 6. – S. 37–(in Russian)

A.S. Bogacheva^{1,2}, E.V. Polozova^{1,2}, I.N. Klushkin³

EXPERIMENTAL EVALUATION OF ACIDS TOXICITY TO UNICELLULAR TEST OBJECTS

I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, 191015, St. Petersburg, Russian Federation

²Northwest Scientific Center of Hygiene and Public Health”, 191036, St. Petersburg, Russian Federation

³Federal Hygiene and Epidemiology Center of Rospotrebnadzor in St.-Petersburg, 196653, St. Petersburg, Russian Federation

The possibility of using unicellular organisms: luminescent bacteria, ciliates *Tetrahymena pyriformis* and cattle spermatozoa as test-objects for assessment of acids toxicity was experimentally evaluated. It was established that the analyzed bioassays are highly sensitive to the toxic effects of acids. It was shown that luminescent bacteria, ciliates *Tetrahymena pyriformis* and cattle spermatozoa can be successfully used in methods for accelerated assessment of acid-base pollution of the environment and working space. **Keywords:** biotesting, test-object, luminescent bacteria, *Tetrahymena pyriformis*, cattle spermatozoa, acids.

Материал поступил в редакцию 17.05.2016 г.

УДК 615.099 – 053 : 615.21

К ВОПРОСУ О РАЗВИТИИ АСТЕНИИ У ДЕТЕЙ В СОМАТОГЕННОМ ПЕРИОДЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ПСИХОФАРМА- КОЛОГИЧЕСКИМИ СРЕДСТВАМИ

Л.А. Коваленко¹, Е. М. Усачева²,
Г.Н. Суходолова³, С. И. Страхов¹

¹Городское Бюджетное Учреждение Здравоохранения
Детская Городская Клиническая Больница №13 имени
Н. Ф. Филатова, 123995, г. Москва, Российская
Федерация

²НОУ «Институт психотерапии и клинической психологии»
125047, г. Москва, Российская Федерация

³Государственное бюджетное образовательное
учреждение дополнительного профессионального
образования РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ Министерства
здравоохранения Российской Федерации, 123995,
г. Москва, Российская Федерация

Астения является одним из наиболее частых синдромов в клинической практике любого врача, в том числе и врача-токсиколога. Астения – патологическое состояние организма человека, формирующееся качественными изменениями функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС), связанное с повышенным расходом в ней энергетических и медиаторных веществ. Под нашим наблюдением находилось 288 больных с острым отравлением психофармакологическими средствами. Наличие астенического синдрома у детей определялось по данным клинического наблюдения и с помощью патофизиологического обследования, дополненного субъективной шкалой астении (MFI-20). Первые признаки астенизации у наблюдаемых нами детей выявлялись на 3 сутки болезни, а к 5 суткам пребывания – имели место выраженные проявления астенического синдрома по гипостеническому или гиперстеническому типу.

Ключевые слова: астения, дети, центральная нервная система, острые отравления, психофармакологические средства.

Ведение. Астения – это патологическое состояние организма человека, формирующееся качественными изменениями функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС), связанное с повышенным расходом в ней энергетических и медиаторных веществ. При этом ведущую роль в формировании астенического синдрома принадлежит ретикулярной формации, которая является своеобразным центром энергообеспечения головного мозга. [1, 2, 3]. Ретикулярная формация тесно связана с функциональной активностью гипоталамо-гипофизарного комплекса и какие-либо изменения в их функционировании приводит к нарушению физической и психической активности, мотиваций, расстройству вегетативных и других функций. [4]. Астения

является одним из наиболее частых синдромов в клинической практике любого врача, в том числе и врача-токсиколога. В настоящее время выделяют две основные клинические формы астении: функциональная (не связанная с хроническими органическими заболеваниями) и органическая, являющаяся одним из проявлений длительного соматического, психического или хронического инфекционного заболевания. Функциональная астения характеризуется принципиальной обратимостью. [5]. Чаще всего астения характеризуется повышенной двигательной и эмоциональной возбудимостью, сменяющейся усталостью. У детей наблюдается частая смена настроения, плаксивость или раздражительность. Двигательное беспокойство и суетливость сменяется сниже-

Коваленко Лилия Анатольевна (Kovalenko Lylia Anatolyevna), кандидат медицинских наук, врач-токсиколог ГБУЗ Детская Городская Клиническая Больница №13 имени Н.Ф. Филатова, 123995, г. Москва, Российская Федерация, lyla72@mail.ru

Усачева Елена Михайловна (Usacheva Elena Mihailovna), кандидат психологических наук, НОУ «Институт психотерапии и клинической психологии», 125047, г. Москва, Российская Федерация, psyinst@psyinst.ru

Суходолова Галина Николаевна (Sukhodolova Galina Nikolaevna), доктор медицинских наук, профессор кафедры 3 Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123995, г. Москва, Российская Федерация, toxi-ka@mail.ru

Страхов Сергей Игоревич (Strakhov Sergei Igorevich), ГБУЗ Детская Городская Клиническая Больница №13 имени Н. Ф. Филатова, 123995, г. Москва, Российская Федерация

нием активности. Отмечается беспокойный сон и трудность в засыпании. Дети старшего возраста могут предъявлять жалобы на потерю интереса к любимым занятиям, состояние усталости и страхи. Характерно снижение памяти и внимания.

При этом в современной литературе достаточно сведений о развитии астении у детей после перенесенных острых травм, в том числе и черепно-мозговых, острых инфекционных болезней [6, 7, 8, 9]. В то время как работ посвященных формированию астенического синдрома у детей при острой химической травме в соматической фазе заболевания, когда яда в организме ребенка уже нет, нами не встречалось. Хотя острая химическая травма с ее сложным многофакторным патогенезом развития болезни (дыхательные и гемодинамические нарушения, гипоксия и метаболические расстройства), ответная стрессовая реакция, а также определенные анатомо-физиологические особенности детского организма предрасполагают к формированию астенического синдрома у детей [10, 11, 12]. В связи с чем данный вопрос является чрезвычайно актуальным и был нами рассмотрен на примере острых отравлений психофармакологическими средствами (ПФС) у детей разного возраста.

Выбор нозологической формы обусловлен распространенностью этого вида отравлений у детей. По статистическим отчетам Детского

токсикологического центра города Москвы в разные годы на долю отравлений ПФС приходится от 20 до 30% от всех отравлений в детском возрасте.

Материалы и методы исследования. Под нашим наблюдением находилось 288 больных с острым отравлением ПФС. Из них 157 пострадавших в возрасте от 1 до 5 лет и 131 пациент 11 – 15 лет. Клиническая оценка психоневрологического статуса больных проводилась на момент поступления в стационар, на 3 и 5 сутки болезни. У всех больных диагнозом острого отравления был подтвержден химико-токсикологическим исследованием путем качественного определения яда в моче методом тонкослойной газожидкостной хроматографии. Степень выраженности нарушения сознания в остром периоде химической болезни оценивалась с помощью шкалы Глазго [13]. Наличие астенического синдрома у детей определялось по данным клинического наблюдения и с помощью патопсихологического обследования, дополненного субъективной шкалой астении (MFI-20) [14].

Критерием исключения из исследования явилось наличие в анамнезе у детей длительных или хронических соматических заболеваний в анамнезе.

Статистическая обработка данных проводилась с применением пакета программ STATISTICA 7.0 (StatSoft.Inc.). Количественные показа-

Таблица 1

Функциональное состояние ЦНС в токсикогенном периоде острых отравлений ПФС

Клинический признак		Возраст больных				
		1 – 5 лет (n=157)		11 – 15 лет (n=131)		
		Абс.число	%	Абс.число	%	P
Уровень сознания	Оглушение	57	36	54	41	0,27
	Сопор	37	24	39	30	0,38
	Кома	63	40	38	29	0,04
Атаксия		50	32	63	48	0,02
ПМВ		37	24	25	19	0,26
Галлюциноз		24	15	14	11	0,19
Судороги		18	11	12	5	0,05

Примечание: p – уровень статистической значимости по критерию Chi-square (df=1).

тели представлены в виде медианы (25-й и 75-й процентиль). Для сравнения частотных характеристик применяли непараметрический критерий Chi-square test. Статистически значимыми считались различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Функциональное состояние ЦНС наблюдаемых нами больных при поступлении в стационар представлено в таблице 1.

На момент поступления в стационар у наблюдаемых нами больных отмечались функциональные расстройства в деятельности ЦНС, обусловленные нейротоксическими процессами, проявляющиеся либо гиперактивацией нервных структур (возбуждение, судорожный синдром), либо их угнетением (заторможенность, оглушение, нарушение сознания), либо дезорганизацией высшей нервной деятельности с развитием транзиторного психодислептического состояния (неадекватные эмоции, галлюцинации). Обращает на себя внимание, что у детей до 5 лет статистически значимо выше была частота развития коматозного состояния, атаксии и судорожного синдрома, что вероятно было обусловлено определенными анатомо-физиологическими особенностями детей раннего возраста. На этом фоне у пациентов наблюдались и существенные сдвиги в системе гомеостаза, связанные с дисбалансом кислородного обеспечения, метаболическими и электролитными расстройствами в результате функциональных нарушений в деятельности дыхательной, сердечно-сосудистой и других систем организма.

При лечении пострадавших был использо-

ван стандартный лечебный комплекс, включающий в себя детоксикационные мероприятия, направленные на скорейшее удаление яда из организма, необходимое реанимационное пособие при тяжелом течении болезни и симптоматическую терапию. На фоне проводимого лечения к концу третьих суток болезни у наблюдаемых больных происходила редукция острых клинических симптомов отравления.

В таблице 2 представлены данные, отражающие функциональное состояние ЦНС в соматогенном периоде острых отравлений ПФС (третьи сутки заболевания).

Из таблицы видно, что на 3 сутки острой химической болезни у детей 1 – 5 лет полное восстановления сознания происходило в 87% случаев. Оглушение (13 – 14 баллов по шкале Глазго) определялось у 9% детей этого возраста. В старшей возрастной группе ясное сознание регистрировалось в 84% случаев, а оглушение – в 11% наблюдений. Сопор (9 – 11 баллов по шкале Глазго) и кома (7 – 8 баллов) регистрировались в единичных случаях как у детей младшего, так и старшего возраста. Угнетение сознания до сопора и комы через 72 часа от момента заболевания как правило было обусловлено гипоксическим поражением ЦНС и развитием церебрального гипергидратационного синдрома в токсикогенной фазе заболевания на фоне декомпенсации основных витальных функциональных систем. К 5 суткам острой химической болезни происходило полное восстановление сознания у всех наблюдаемых нами пациентов.

Клинические проявления астенического син-

Таблица 2

Функциональное состояние ЦНС у детей в соматогенном периоде острых отравлений ПФС

Клинический признак		Возраст больных				
		1 – 5 лет (n=157)		11 – 15 лет (n=131)		
		Абс.число	%	Абс.число	%	P
Уровень сознания	Ясное	136	87	110	84	0,15
	Оглушение	15	9	14	11	0,69
	Сопор	3	2	4	3	0,84
	Кома	3	2	3	2	0,97
Астенический синдром		102	65	95	72	0,05

Примечание: p – уровень статистической значимости по критерию Chi-square (df=1)

дрома наблюдались в 65% случаев у детей 1 – 5 лет и 72% случаев у детей старшего возраста.

В дальнейшем дети перенесшие отравление легкой степени, и в ряде случаев средней степени тяжести, не требующие дополнительно лечения и обследования были выписаны под амбулаторное наблюдение.

Клиническое наблюдение за оставшимися в отделении пациентами (n=184) показало, что в соматопсихическом статусе у детей доминировали признаки астении (табл. 3).

Как видно из таблицы у детей 1 – 5 лет астенический синдром чаще всего проявлялся по гиперстеническому типу. При клиническом наблюдении за детьми в 69% отмечалась повышенная возбудимость и раздражительность, в 55% наблюдений с выраженной плаксивостью. Часто у детей маленького возраста регистрировалось двигательное беспокойство с изменением поведенческих реакций (суетливость, шаловливость). В 40% случаев выявлялись расстройства сна (трудность засыпания, поверхностный сон с частыми пробуждениями). Детей с проявлениями астении по гипостеническому типу было практически в 2 раза меньше. У них наблюдалась сонливость, повышенная утомляемость и существенное снижение активности.

В группе детей старше 11 лет, также как и у детей раннего возраста, наблюдались клини-

ческие симптомы астении гипостенического и гиперстенического типа. Однако у пациентов 11 – 15 лет чаще всего преобладали гипостенические нарушения ($p \leq 0,05$).

Также нами было проведено расширенное психологическое тестирование данной категории больных с использованием стандартных методик. Это позволило клинически дополнительно выделить у них три преобладающих варианта астенического синдрома.

Первый – дети с преобладанием соматических и физических жалоб: общая слабость, головная боль, повышенная утомляемость. Объективно у этих подростков отмечалось снижение физической активности.

Второй – дети с преобладанием аффективной симптоматики. В данной группе преобладали жалобы на сниженное настроение и тревогу. Объективно отмечались эмоциональная лабильность, склонность к капризам, плаксивость.

Третий – дети с преобладанием изменений в мотивационной сфере. Такие подростки не предъявляли жалоб, но в клинической беседе отмечали снижение интереса к деятельности, в том числе к любимым занятиям, безразличие к взаимодействию с другими детьми в отделении.

Для объективной оценки степени астенизации нами было проведено тестирование 50 па-

Таблица 3

Клинические признаки астенического синдрома у детей разного возраста, регистрируемые в соматогенном периоде острых отравлений ПФС

Клинический признак	Возраст больных				p
	1 – 5 лет (n=98)		11 – 15 лет (n=86)		
	Абс.число	%	Абс.число	%	
Повышенная возбудимость, раздражительность	68	69	29	34	0,02
Расстройства сна	39	40	22	26	0,04
Двигательное беспокойство	30	31	14	16	0,02
Плаксивость	54	55	15	17	0,01
Снижение активности	30	31	57	66	0,01
Повышенная утомляемость	28	29	50	58	0,05
Сонливость	26	30	39	45	0,08

Примечание: p – уровень статистической значимости по критерию Chi-square (df=1).

Таблица 4

Результаты тестирования больных 11 – 15 лет по субъективной шкале астении (MFI-20)

Исследуемый показатель	Медиана	25 квартиль	75 квартиль
Общее количество баллов	50	39	60
Общая астения	15	10	19
Пониженная активность	15	9	17
Снижение мотивации	14	8	18
Физическая астения	11	9	14
Психическая астения	14	10	16

циентов в возрасте 11 – 15 лет по субъективной шкале астении (MFI-20). Данная шкала состоит из 20 утверждений, отражающих разные составляющие астенического расстройства: общая астения, физическая астения, пониженная активность, снижение мотивации, психическая астения. Оценка шкалы является суммой баллов отдельных составляющих ее пунктов у каждого больного в интервале от 4 до 20 баллов. Наивысший балл отражает самую высокую тяжесть астении.

Результаты исследования представлены в виде медианного критерия, 25 и 75 квартиля (табл. 4).

Как видно из таблицы общее количество баллов при исследовании составило 50 баллов, при разбросе данных от 39 до 60 баллов. В то время как в норме общее количество баллов не должно превышать 30. При этом необходимо отметить, что у пациентом в основном отмечается психическая астенизация личности. Физические проявления астенического синдрома у данной категории больных менее выражены.

Также эти пациенты прошли клинико-психологическое обследование, которое включало исследование когнитивных функций с помощью стандартных патопсихологических методик. В результате исследования у всех детей были выявлены: снижение работоспособности, повышенная истощаемость, снижение таких характеристик внимания, как переключаемость, распределение и способность к концентрации. У них было отмечено снижение объема кратковременной памяти, неустойчивость следов памяти к гомогенной и гетерогенной интерференции.

У 8 пациентов с наиболее тяжелым течением острой химической болезни с явлениями

декомпенсации основных витальных функций в токсикогенном периоде на фоне гипоксии мозговой ткани, связанной с нарушением перфузионного кровотока, отеком головного мозга регистрировались ранние признаки энцефалопатии. У детей отмечалось снижение умственной работоспособности и памяти (особенно на недавние события), нарушения сна, затруднения при смене деятельности. Дети старшего возраста предъявляли жалобы на головную боль, слабость, нарушения зрения. В неврологическом статусе у этих пациентов отмечалась мышечная дистония, в четырех наблюдениях имело место повышение сухожильных рефлексов и нарушение координации. При электроэнцефалографии у них регистрировались патологические медленные волны.

Заключение. Проведенное нами исследование показало, что формирование астенического синдрома у детей при острых отравлениях ПФС происходило во всех наблюдаемых возрастных группах. Первые признаки астенизации у больных выявлялись нами на 3 сутки болезни, к 5 суткам пребывания – имели место выраженные проявления астенического синдрома по гипостеническому или гиперстеническому типу. При этом у детей старшего возраста психоастеническая симптоматика преобладала над физической.

Таким образом, полученные нами данные показывают, что уже в начальном периоде острой химической болезни, в комплексе лечебных мероприятий необходима дополнительная фармакологическая коррекция, направленная на профилактику астенического синдрома. А в соматогенном периоде болезни целесообразно проведение ранней реабилитации больных с использованием специализированных психо-

коррекционных методик. Пациенты перенесли острую химическую травму требуют дополнительного диспансерного наблюдения и

восстановительного лечения в амбулаторных условиях на базе поликлиник или восстановительных центров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Одинак М.М. и соавт. Астенические состояния. Пособие для врачей. СПб.: Военно-медицинская академия, 2003.
2. Heim C., Wagner D., Maloney E., Papanicolaou D.A., Solomon L., Jones J.F., Unger E.R., Reeves W.C. Early adverse experience and risk for chronic fatigue syndrome: results from a population-based study. *Archives of general psychiatry*. – 2006. – Vol. 26 (3). – 63. – 11. – 1258-1266.
3. Reid S., Chalder T., Cleare A., Hotopf M., Wessely S. Chronic fatigue syndrome. *Clinical evidence*. – 2005. – Vol. 24 (5). – 14. – 1366-1378.
4. Дюкова Г.М. Лечение астении. Лечение нервных болезней 2002; 3(2(7)): 4–9. (in Russian) Аведисова А.С. Терапия астенических состояний. Фармацевтический вестник. – 2003. № 3 (282). – С.15–16.
5. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Нурманбетова Ф.Н. Лечение посттравматической церебрастении антигипоксантами // Вестник Рос. воен.-мед. академии. – 2005. – № 2 (14). – С. 38 – 41.
6. Одинак М.М. Тактика комплексной терапии и реабилитации больных с посттравматическими когнитивными нарушениями / М.М. Одинак, А.Ю. Емелин, С.В. Воробьев и др. // Военно-медицинский журнал. – 2011. – Т. 332, № 1. – С. 17-23.
7. Полянская Н.А. Клинико-катамнестическое наблюдение за детьми с моно- и микст-вариантами ротавирусной инфекции / Н.А. Полянская, Е.Ф. Лобова // Вест. новых мед. технологий. -2011. - №2, - С. 315-317.
8. Watanabe N., Stewart R., Jenkins R., Bhugra D.K., Furukawa T.A. The epidemiology of chronic fatigue, physical illness, and symptoms of common mental disorders: a cross-sectional survey from the second British National Survey of Psychiatric Morbidity. *J Psychosom Res*. 2008 Apr; 64 (4): 357–62
9. Алехнович А.В. Компенstorные механизмы и приспособительные процессы при острых отравлениях психотропными препаратами/ А.В. Алехнович, В.Б. Иванов, К.К. Ильяшенко М.: 2010. – 300 с.
10. Лужников Е.А. Клиническая токсикология: учебник. / Е.А. Лужников, Г.Н. Суходолова: – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. – 576с.: ил.
11. Маркова И.В. Клиническая токсикология детей и подростков. / И.В. Маркова, В.В.Афанасьев, Э.К. Цыбулькин и др. – С.Пб.: «Интермедика» 1999. – 400 стр. с илл.
12. Teasdale G.M. Assessment of coma and impaired consciousness: A practical scale. / G.M. Teasdale, B. Jennett *Lancet*, 1974.
13. Smets, E. M., Garssen, B. J., Bonke, B., & De Haes, J. C. (1995). The multidimensional fatigue inventory (MFI) psychometric properties of an instrument to assess fatigue. *Journal of Psychosomatic Research*, 39, 315-325.
1. Odinak M.M. i soavt. Astenicheskie sostoyaniya. Posobie dlya vrachej. SPb.: Voennno-medicinskaya akademiya, 2003. (in Russian)
2. Heim C., Wagner D., Maloney E., Papanicolaou D.A., Solomon L., Jones J.F., Unger E.R., Reeves W.C. Early adverse experience and risk for chronic fatigue syndrome: results from a population-based study. *Archives of general psychiatry*. – 2006. – Vol. 26 (3). – 63. – 11. – 1258-1266.
3. Reid S., Chalder T., Cleare A., Hotopf M., Wessely S. Chronic fatigue syndrome. *Clinical evidence*. – 2005. – Vol. 24 (5). – 14. – 1366-1378.
4. Dyukova G.M. Lechenie astenii. Lechenie nervnyh boleznej 2002; 3(2(7)): 4–9. (in Russian)
5. Avedisova A.S. Terapiya astenicheskikh sostoyanij. Farmaceuticheskij vestnik. – 2003 № 3 (282). – S. 15–16. (in Russian)
6. SHabanov P.D., Zarubina I.V., Numanbetova F.N. Lechenie posttravmaticheskoy cerebrastenii antigipoksantami // Vestnik Ros. voen.-med. akademii. – 2005 № 2 (14). – S. 38 – 41. (in Russian)
7. Odinak M.M. Taktika kompleksnoj terapii i rehabilitacii bol'nyh s posttravmaticheskimi kognitivnymi narusheniyami / M.M. Odinak, A.YU. Emelin, S.V. Vorob'ev i dr. // Voennno-medicinskij zhurnal. – 2011. T. 332, № – S. 17–23. (in Russian)
8. Polyanskaya H.A. Kliniko-katamnestichekoe nablyudenie za det'mi s mono- i mikst-variantami rotavirusnoj infekcii / H.A. Polyanskaya, E.F. Lobova // Vest, novyh med. tekhnologij. -2011 №2, - S. 315-317. (in Russian)
9. Watanabe N., Stewart R., Jenkins R., Bhugra D.K., Furukawa T.A. The epidemiology of chronic fatigue, physical illness, and symptoms of common mental disorders: a cross-sectional survey from the second British National Survey of Psychiatric Morbidity. *J Psychosom Res*. 2008 Apr; 64 (4): 357–62.
10. Alekhnovich A.V. Kompenstornyye mekhanizmy i prisposobitel'nye processy pri ostryh otravleniyah psihotropnymi preparatami/ A.V. Alekhnovich, V.B. Ivanov, K.K. Ilyashenko M.: 2010 300 s. (in Russian)
11. Luzhnikov E.A. Klinicheskaya toksikologiya: uchebnik. / E.A. Luzhnikov, G.N. Suhodolova: – 4-e izd., pererab. i dop. – М.: ООО «Medicinskoe informacionnoe agentstvo», 2008- 576s.: il. (in Russian)
12. Markova I.V. Klinicheskaya toksikologiya detej i podrostkov. / I.V. Markova, V.V.Afanas'ev, E.H.K. Cybul'kin i dr. – S.Pb.: «Интермедика» 1999 -400 str. s ill. (in Russian)
13. Teasdale G.M. Assessment of coma and impaired consciousness: A practical scale. / G.M. Teasdale, B. Jennett *Lancet*, 1974.
14. Smets, E. M., Garssen, B. J., Bonke, B., & De Haes, J. C. (1995). The multidimensional fatigue inventory (MFI) psychometric properties of an instrument to assess fatigue. *Journal of Psychosomatic Research*, 39, 315-325.

L.A. Kovalenko¹, E.M. Usacheva², G. N. Sukhodolova³, S.I. Strakhov⁴

ON THE QUESTION OF THE DEVELOPMENT OF ASTHENIA IN CHILDREN IN THE SOMATOGENIC PERIOD OF ACUTE POISONINGS WITH PSYCHOPHARMACOLOGICAL AGENTS

¹N.F.Filatov Children's City Clinical Hospital No 13,123995 Moscow, Russian Federation

²Institute of Psychotherapy and Clinical Psychology” 125047 Moscow, Russian Federation

³ Russian Medical Academy of Post-graduate Education, Ministry of Healthcare of Russia, 123995, Moscow, Russian Federation

The asthenia is one of the most frequently occurring syndromes in the clinical practice of any physician including toxicologists. Asthenia is a pathological condition of a human body which is caused by qualitative changes in a functional condition of the central nervous system (CNS); it is bound to an increased consumption of power potential and mediator substances in CNS. 288 patients with acute psychopharmacological poisoning were monitored. The presence of an asthenic syndrome in children was identified by data of clinical monitoring and by means of the pathopsychological examination completed with a subjective scale of asthenia (MFI-20). The first signs of asthenisation in children under observation appeared on the 3rd day of the illness, and by the 5th day of stay in hospital, expressed manifestations of the asthenic syndrome of hyposthenic or hypersthenic type took place.

Keywords: asthenia, children, central nervous system, poisonings, psychopharmacological agents.

Материал поступил в редакцию 29.03.2016 г.

УДК 57.08 :

DROSOPHILA MELANOGASTER КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА МЕТОТРЕКСАТА (METHOTREXATE)

О.Н. Антосюк, А.М. Марвин

ФГАОУ ВПО УрФУ имени первого президента
России Б.Н. Ельцина, 620002, г. Екатеринбург,
Российская Федерация

Метотрексат используется активно в медицинской практике, в частности при химиотерапии. Являясь ингибитором дигидрофолатредуктазы, влечет за собой 1 и 2-цепочечные разрывы ДНК, неправильное метилирование. Использовались 3 линии дикого типа *Drosophila melanogaster*. В качестве фактора химического стресса использовался метотрексат (400 мкг/кг среды). Длительная селекция привела к изменению локализации и площади очагов апоптоза в крыловом имагинальном диске в присутствии метотрексата. Вероятно, различия в чувствительности линий связаны с различной активностью компарментов в крыловом имагинальном диске, а также различным количеством копий *hobo*-элемента.

Ключевые слова: метотрексат, *hobo*, морфометрический анализ, дигидрофолатредуктаза.

Введение. В ряде работ описывается генотоксический эффект, вызванный различными химическими препаратами на различных модельных объектах, в том числе и на дрозофиле [1]. Наибольший практический интерес среди препаратов химического стресса представляют цитостатические препараты, активно используемые в медицинской практике. В данном исследовании использовался метотрексат (Methotrexate) - ингибитор дигидрофолатредуктазы, что негативно сказывается также и на фолатном цикле, в том числе и у человека. Нарушение метаболизма фолатов влияет на стабильность ДНК за счет подавления синтеза тимидилатов и, как следствие, происходят 1 и 2-цепочечные разрывы цепи либо недостаточное метилирование ДНК, с последующей неправильной генной экспрессией [2]. Недостаточное метилирование определенных регионов генов – супрессоров опухолей может вызвать трансформацию клеток, что является основой для канцерогенеза. Эффект метотрексата проявляется в более активном апоптозе в крыловом имагинальном мезоторакальном диске, что впоследствии выражается в изменении параметров крыла у имаго [3]. Таким образом, используемый нами морфометрический анализ крыла по 24 показателям позволяет оценить изменения в крыле, вызванные воздействием факторов стресса различной природы.

Исходя из всего вышесказанного, целью данных исследований являлось проанализировать тератогенный эффект и нестабильность генома у линий дикого типа *Drosophila melanogaster* в условиях химического стресса, вызванного метотрексатом, используя ряд следующих показателей:

1. Оценка жизнеспособности: средняя индивидуальная плодовитость (СИП), частота эмбриональной гибели особей на ранних и поздних этапах развития.
2. Оценка частоты хемоморфозов типа «вырезка» на крыле.
3. Морфометрический анализ крыла по 24 показателям: линейные и двумерные параметры крыловой пластинки.
4. Определение копийности *hobo*-элемента и *hobo*-подобных элементов в линиях дикого типа с использованием полимеразно-цепной реакции (ПЦР).

Материалы и методы исследования. В работе были использованы 3 линии дикого типа *Drosophila melanogaster*, отловленные в природе и впоследствии культивируемые в лабораторных условиях: Биос-3 (Двуреченск, 2007), Белгород (Белгород, 2006), Host (Екатеринбург, 2005). Все три линии помещались на среду Альдерстона, содержащую метотрексат (400 мкг/кг среды), где в течение всего периода развития получали препарат

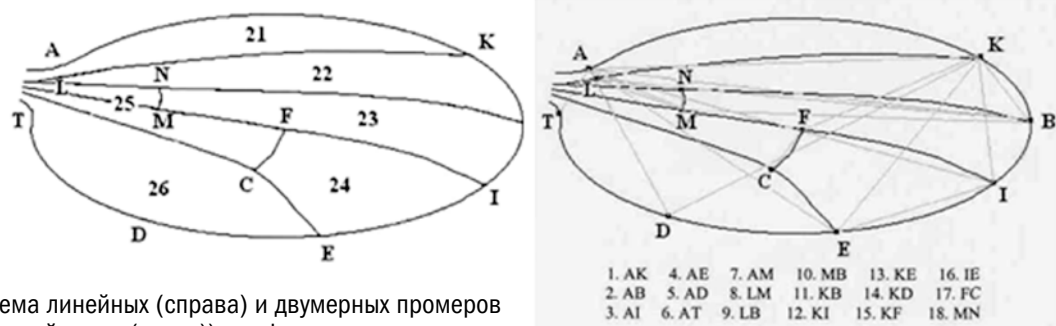


Рис. 1. Схема линейных (справа) и двумерных промеров (площади ячеек крыла(слева)) морфометрического анализа крыловой пластинки *Drosophila melanogaster*.

трофическим путем. После содержания на среде с метотрексамом следующее поколение культивировалось на чистой среде. Таким образом, чередовалось культивирование на чистой среде и на среде с цитостатиком. Подобное культивирование позволяло пронаблюдать процессы онтогенетической и генотипической адаптации. После вылета имаго, содержащихся весь цикл развития на среде с метотрексамом, разнополые особи попарно культивировались в пробирках. Ежедневно в течение 10-14 подводился подсчет СИП, а также частота эмбриональной гибели потомства на ранних и поздних этапах развития. Затем крылья 25 особей фотографировались камерой Nikon Coolpix 4500 для морфометрического анализа крыла по 18 линейным параметрам, а также по 6 двумерным (рис.1). Анализ выполнялся при помощи программы Universal Desctop Ruler, а полученные промеры обрабатывались при помощи программы Statistics 6.0 с использованием дискриминантного анализа с критическим уровнем значимости $p \leq 0,05$. Результаты, полученные при подсчете СИП и частоты ранней и поздней эмбриональной гибели особей, обрабатывались в программе Statistics 6.0 критерием Стьюдента ($p \leq 0,05$). На основе полученных результатов дискриминантного анализа морфометрических данных, подтверждающих косвенно нестабильность генома, определялась копияность *hobo* и *hobo*-подобных элементов прямыми методами. Копийность *hobo* элементов в 9 генотипах

дрозофилы оценивали методом ПЦР в реальном времени с праймерами к последовательности *hobo* элемента и гена *scalloped*. Объем реакционной смеси для ПЦР составлял 20μл. В ее состав входили матричная ДНК, 1.5 U полимеразы, буфер (концентрация Mg^{++} в 1x буфере составляет 2,5мМ) и 5мкМ каждого dNTP, 10пкМ праймеров, 5пкМ зонда. Условия проведения ПЦР: 5 мин 93°C, 50 циклов – 15 сек 93°C, 60 сек 55°C, 60 сек 72°C, далее 15 сек 25°C с использованием прибора CFX96 (Biorad).

Результаты и обсуждение. Сравнительный анализ жизнеспособности по ряду показателей выявил, что СИП у особей линии Биос-3, выращенных на среде с метотрексамом ниже, в 2 раза, чем в контрольной группе, а именно: в контрольной группе данный показатель $25,74 \pm 1,99$, при воздействии метотрексамом - $12,44 \pm 1,39$. Как и в случае с СИП, более высокие значения частоты гибели потомства (F1) отмечаются у особей линии Биос-3. В контрольной группе - $2,15 \pm 0,72$, а в группе, находящейся под воздействием метотрексата - $2,52 \pm 0,73$. Частота гибели потомства на стадии позднего эмбрионального развития в контрольной группе - $1,44 \pm 0,60$, а при воздействии метотрексата - $0,92 \pm 0,25$. Наибольшая частота повреждений типа «вырезка» на крыле наблюдается в течение всего отбора в линии Host F54, она достигает 80,7%. Морфометрический анализ использовался для обнаружения различий в линейных параметрах и площадях ячеек крыльев особей после воздействия

Таблица

Количество копий *hobo* и *hobo*-подобных элементов у исследованных генотипов линий дикого типа *Drosophila melanogaster* (Host, Белгород, Биос-3)

генотип	количество	генотип	количество	генотип	количество
Host контроль	165140 ±2,49	Белгород контроль	2431362 ±1,42	Биос-3 контроль	554182 ±3,68
Host P	2568 ±3,43	Белгород P	94629 ±1,38	Биос-3 P	441892 ±1,38
Host F ₆₀	536543 ±1,67	Белгород F ₇₂	6039 ±3,73	Биос-3 F ₇₅	9200835 ±2,25

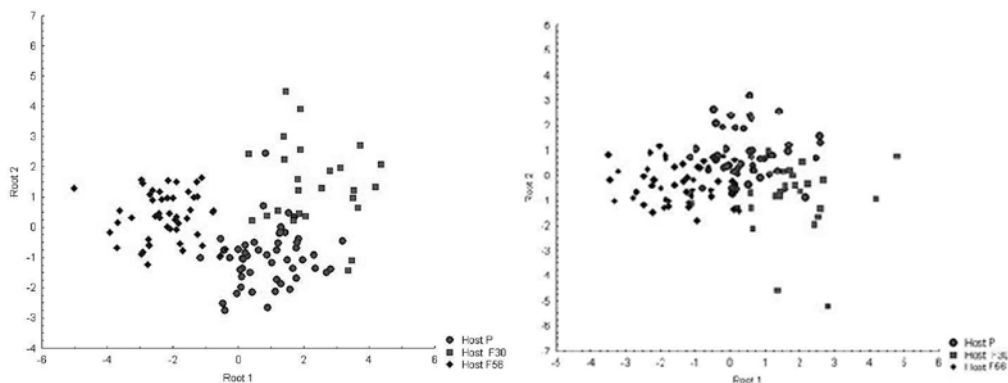


Рис.2. Графическое отображение дискриминантного анализа линейных(слева) и двумерных параметров(справа) крыла линии Биос-3, изменяющихся при длительной направленной селекции на метотрексате относительно контрольной группы и родительского поколения(P), выращенном на метотрексате.

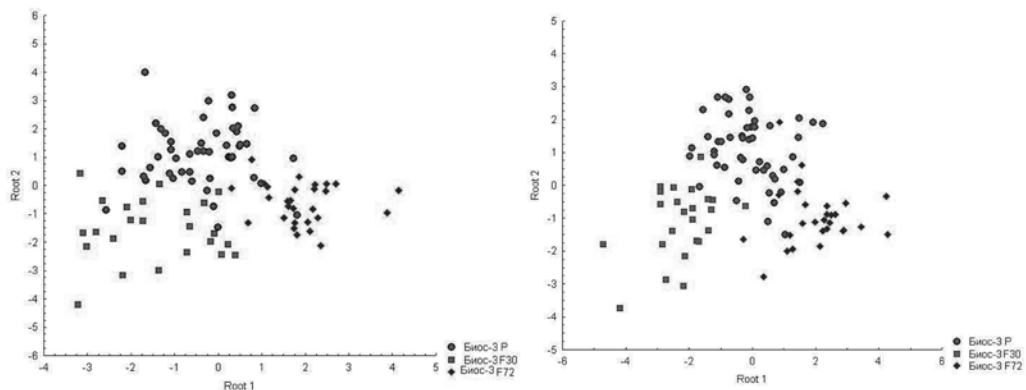


Рис.3. Графическое отображение дискриминантного анализа линейных(слева) и двумерных параметров(справа) крыла линии Host, изменяющихся при длительной направленной селекции на метотрексате относительно контрольной группы и родительского поколения (P), выращенном на метотрексате.

метотрексатом дозой 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (для линий Биос-3 и Host LD_{50} , для линии Белгород LD_{70}), а также метотрексатом на протяжении нескольких десятков поколений. У линии Белгород изменению не подвергаются такие значительные по размеру ячеи крыла как 25 и 26, составляющие практически 50% крыловой пластинки. Таким образом, с учетом различий таких линейных параметров как AM, KB и FC можно предположить, что изменению подлежат лишь параметры верхней части крыловой пластины.

Таким образом, на основании результатов, полученных в ходе дискриминантного анализа морфометрических показателей крыла можно говорить о том, что линия дикого типа Белгород отличается от линий дикого типа Биос-3 и Host в отношении уровня онтогенетической и генотипической адаптации при воздействии факторов химического стресса. Копийность hobo и hobo-подобных элементов после первичного воздействия метотрексатом у всех трех линий дикого типа прослеживается некоторое уменьшение данного показателя, но впоследствии в ходе длительной направленной селекции линейные различия становятся более выраженными (табл.).

При влиянии внешних стрессовых факторов в первую очередь воздействию фактора стресса подвергаются именно генеративные клетки, вплоть до полной стерилизации особи [4]. Получен ряд данных свидетельствующих в пользу предположения о том, что соматические клетки также подвергнуты влиянию стресса, как и генеративные клетки [5]. Тератогенный эффект, наблюдаемый в данном исследовании, может повлечь изменение геномной стабильности [6]. Известно, также, что именно hobo-элемент наиболее распространен и активен в линиях дикого типа, отловленных в природе, что демонстрируется в ряде работ на линии Умань, наличие и активность hobo и P элементов в которой определяется с использованием как пцр, так и флюоресцентной гибридизации *in situ* [7]. Также в ряде других работ проведенных как на особях дикого типа, так и на мутантных лабораторных линиях показано активная роль транспозонов в формировании адаптации [8]. Линии Биос-3 и Host устойчивы к химическому воздействию, а линия Белгород демонстрирует противоположные свойства. Данные различия нивелирует длительный отбор, в ходе которого Биос-3 вновь становится чувстви-

тельной к метотрексату относительно остальных линий, а Белгород устойчивой. Данное предположение высказывается, основываясь на показателе частоты встречаемости повреждений типа «вырезка» на крыле, а также на дискриминантном анализе крыловых параметров. Результаты, полученные в ходе эксперимента, позволяют сделать, хотя и косвенный, вывод об активизации мобильных генетических элементов. Исключением может послужить лишь линия дикого типа Белгород, в ходе отбора у которой незначительно видоизменяется по соотношению параметров крыловая пластина, что, вероятно, свидетельствует о малой активизации мобильных генетических элементов, либо даже их дезактивизации. Молекулярно-генетический анализ копийности hobo-элемента подтвердил уменьшение количества hobo и hobo-подобных элементов в линии Белгород, что можно объяснить возможностью экс-

цизии транспозонов [9]. Последующая селекция привела к тому, что особи данной линии откладывали единичные яйца, не развивающиеся либо неоплодотворенные, что в последствие привело к гибели линии, достигшей 74 поколения отбора.

Заключение. Немаловажным является исходное количество копий hobo и hobo-подобных элементов, а также направление отбора. Направленный отбор в условиях стресса может привести к сильной активизации транспозонов, и соответственно к более высокой изменчивости особей внутри линии за счет большей геномной нестабильности. Дезактивизация же транспозонов благодаря механизмам эксцизии, либо за счет других механизмов приводит в свою очередь к очень низкой изменчивости, которая в условиях стресса может приводить к гибели особей.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта РФФИ НК-14-04-31654.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abazykin G., Kondrashov A.S. Major role of positive selection in the evolution of conservative segments of *Drosophila* proteins. Proc.R.Soc.B.2012; V.279: 3409-17.
2. Stampfer M.J., Christensen B., Grovannucci E. et al. A polymorphism of the methionine synthase gene: association with plasma folate, vitamin B12, homocyst(e)ine, and colorectal cancer risk. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1999; V.8. (9): 825-29.
3. Martin F.A., Herrera S.C., Morata G. Cell competition, growth and size control in the *Drosophila* wing imaginal disc // Development. 2006; V.136. (22): 3747-56.
4. Kislukhin G., Murphy M.L., Jafari M., Long A.D. Chemotherapy - induced toxicity is highly heritable in *Drosophila melanogaster*. Pharmacogenet. Genomics. 2012; V. 22.(4): 285-89.
5. Коваленко Л.В., Захаренко Л.П., Захаров И.К. Транспозиция hobo-элемента в соматических клетках *Drosophila melanogaster*. Генетика. 2006; Т.42. (2): 177-84.
6. Антосюк О.Н., Марвин А.М., Марвин Н.А. Сравнительный анализ воздействия цитостатических препаратов на нестабильность генома *Drosophila melanogaster*. Биомедицина. 2014; (3): 83-91.
7. Захаренко Л.П., Воложина М.А., Захаров И.К. Влияние генетического окружения на лocus-специфичную нестабильность в гене yellow *Drosophila melanogaster* из Умани. Генетика. 2007; Т. 43. (7): 938-42.
8. Sheen F., Lim K., Simmons M.J. 1993. Genetic Instability in *Drosophila melanogaster* Mediated by hobo Transposable Elements. Genetics. 1993; V. 133: 315-34.
9. Atkinson P.W., Warren W.D., O`Brochta D.A. The hobo transposable element of *Drosophila* can be cross-mobilized in houseflies and excises like the Ac element of maize. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993; V. 90.(20): 9693-97.

REFERENCES:

1. Abazykin G., Kondrashov A.S. Major role of positive selection in the evolution of conservative segments of *Drosophila* proteins. Proc.R.Soc.B.2012;V.279: 3409-17.
2. Stampfer M.J., Christensen B., Grovannucci E. et al. A polymorphism of the methionine synthase gene: association with plasma folate, vitamin B12, homocyst(e)ine, and colorectal cancer risk. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.1999; V.8. (9): 825-29.
3. Martin F.A., Herrera S.C., Morata G. Cell competition, growth and size control in the *Drosophila* wing imaginal disc. Development.2006; V.136. (22): 3747-56.
4. Kislukhin G., Murphy M.L., Jafari M., Long A.D. Chemotherapy - induced toxicity is highly heritable in *Drosophila melanogaster*. Pharmacogenet. Genomics.2012; V. 22.(4): 285-89.
5. Kovalenko L.V., Zaharenko L.P., Zaharov I.K. Transposition of the hobo element in *Drosophila melanogaster* somatic cells. Genetika. 2006; V.42. (2):177-84 (In Russian).
6. Antosyuk O.N., Marvin A.M., Marvin N.A. The comparative analysis of influence of cytostatic drugs on genome instability of *Drosophila*. Biomedicine. 2014; (3): 83-1 (In Russian).
7. Zakharenko L.P, Voloshina M.A,Zakharov I.K The effect of genetic environment on locus-specific instability of the yellow gene in Uman' population of *Drosophila melanogaster*. Genetika. 2007; V.43 (7): 938-42 (In Russian).
8. Sheen F., Lim K., Simmons M.J. 1993. Genetic Instability in *Drosophila melanogaster* Mediated by hobo Transposable Elements. Genetics. 1993; V. 133: 315-34.
9. Atkinson P.W., Warren W.D., O`Brochta D.A. The hobo transposable element of *Drosophila* can be cross-mobilized in houseflies and excises like the Ac element of maize. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993;V. 90.(20): 9693-97.

O.N. Antosyuk, A.M. Marvin

THE INVESTIGATION OF METHOTREXATE BIOLOGICAL EFFECTS ON EXAMPLE OF *Drosophila melanogaster*

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin
620002 Ekaterinburg, Russian Federation

Results of investigations into some immunobiochemical indices in crucian carp at a chronic exposure to sublethal concentrations of copper ions are reported. Anti- microbial properties in the blood serum and a share of immunodeficient fishes were studied; in liver a content of nonspecific immune complexes, level of common lipids, content of lipid peroxidation products and antioxidant activity were investigated. The dependency of values of indices under consideration on how long fishes stayed under experimental conditions was shown.

Keywords: fish, copper ions, humoral immunity, lipids, pro-and anti -oxidant system.

Материал поступил в редакцию 24.11.2014 г.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 597: 546.55/.59

НЕКОТОРЫЕ ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЗОЛОТОГО КАРАСЯ *CARASSIUS CARASSIUS* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СУБЛЕТАЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ МЕДИ

Д.В. Микряков,
Н.И. Силкина,
В.Р. Микряков

ФГБУН Институт биологии
внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН,
152742, Ярославская обл.,
Некоузский р-он., п. Борок,
Российская Федерация,

Представлены результаты изучения некоторых иммунобиохимических показателей золотого карася при хроническом воздействии низких концентраций меди. В сыворотке крови исследованы антимикробные свойства и доля иммунодефицитных особей, в печени – содержание неспецифических иммунных комплексов, уровень общих липидов, содержание продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантная активность. Показана зависимость величин исследуемых показателей от времени пребывания рыб в условиях эксперимента.

Ключевые слова: рыба, ионы меди, гуморальный иммунитет, липиды, прооксидантно-антиоксидантная система.

Введение. В результате интенсивно-антропогенного загрязнения содержание многих тяжелых металлов (ТМ) в воде и гидробионтах повышается. Избыточное поступление высоких концентраций ТМ оказывает токсическое действие на организм рыб, нарушая физиолого-биохимический и иммунологический статус [1-5].

Медь – один из широко распространенных и токсичных для гидробионтов элементов группы ТМ [6,7]. Обычные фоновые уровни не превышают 0,001-0,02 мг/л, ПДК для рыбохозяйственных водоемов – 0,001 мг/л. Основное загрязнение медью – антропогенного происхождения. Медь, легко образуя комплексы с неорганическими веществами и адсорбируясь на взвешях, редко встречается в виде свободного иона. Токсичность меди возрастает при снижении жесткости

воды, температуры, содержания кислорода в воде и уменьшается при появлении гуминовых кислот, аминокислот и взвешенных веществ. Негативное влияние высоких концентраций этого элемента на организм рыб выражается нарушениями метаболических процессов, изменением проницаемости клеточных мембран, ингибированием окислительного фосфорилирования и синтеза нуклеиновых кислот и белков и др. В то же время, медь относится к эссенциальным т.е. жизненно необходимым для животных незаменимым микроэлементам и участвует в обмене веществ, окислительно-восстановительных процессах, синтезе гемоглобина, иммунобиологической устойчивости, повышении адаптивных функций и сопротивляемости организма к вредным воздействиям факторов внешней среды [3,5-8].

Микряков Даниил Вениаминович (Mikryakov Daniil Veniaminovich), к.б.н., зав. лаборатории иммунологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Ярославская обл., Некоузский р-он., п. Борок, Российская Федерация, danil@ibiw.yaroslavl.ru
Силкина Нина Иосифовна (Silkina Nina Iosifovna), к.б.н., с.н.с. лаборатории иммунологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Ярославская обл., Некоузский р-он., п. Борок, Российская Федерация, sni@ibiw.yaroslavl.ru
Микряков Вениамин Романович (Mikryakov Veniamin Romanovich), проф., д.б.н., гл.н.с. лаборатории иммунологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Ярославская обл., Некоузский р-он., п. Борок, Российская Федерация, mvr@ibiw.yaroslavl.ru

Ранее нами показано негативное воздействие меди на организм сеголетков карпа: при длительном пребывании в растворах меди замедлялся прирост, изменялись иммунологические и физиолого-биохимические показатели [9,10]. Об иммунобиохимическом

статусе других видов рыб при длительном пребывании в воде, содержащей медь в низких концентрациях, известно мало.

Цель работы – изучение хронического воздействия меди в низких концентрациях на состояние врожденного иммунитета

Таблица

Иммунобиохимические показатели карася

Сут	Показатели	Условия экспозиции	
		Контроль	Cu ²⁺
1	Бактерицидная активность сыворотки крови, %	13.7±1.4	13.9±0.9
	% иммунодефицитных особей	0	0
	Уровень иммунных комплексов, у.е.	9.69±1.1	9.67±1.2
	Содержание общих липидов, мг%	2255±40	2265±45
	Содержание малонового диальдегида, Нмоль/г ткани	6.39±1.4	6.40±1.2
Константа окисления субстрата, л х мл-1 х мин-1	4.01±1.3	4.04±1.0	
7	Бактерицидная активность сыворотки крови, %	12.5±1.6	21.4±3.1*
	% иммунодефицитных особей	0	0
	Уровень иммунных комплексов, у.е.	10.33±1.2	33.27±2.9*
	Содержание общих липидов, мг%	2265±45	2275±35
	Содержание малонового диальдегида, Нмоль/г ткани	6.55±1.2	13.28 ±2.1*
Константа окисления субстрата, л х мл-1 х мин-1	4.03±1.1	5.94±1.1*	
14	Бактерицидная активность сыворотки крови, %	14.3±2.0	3.5±3.0*
	% иммунодефицитных особей	0	20
	Уровень иммунных комплексов, у.е.	10.57±1.7	27.18±2.3*
	Содержание общих липидов, мг%	2250±55	2285±40*
	Содержание малонового диальдегида, Нмоль/г ткани	6.62±1.4	18.74±1.6*
Константа окисления субстрата, л х мл-1 х мин-1	4.01±1.5	13.21±2.0*	
30	Бактерицидная активность сыворотки крови, %	12.1±1.5	4.5±1.1*
	% иммунодефицитных особей	0	30
	Уровень иммунных комплексов, у.е..	11.34±1.7	39.21±7.5
	Содержание общих липидов, мг%	2255±40	22950±55*
	Содержание малонового диальдегида, Нмоль/г ткани	7.04±1.5	17.9±1.6*
Константа окисления субстрата, л х мл-1 х мин-1	4.13±1.5	16.71±1.9*	
75	Бактерицидная активность сыворотки крови, %	10.5±1.7	8.5±1.3*
	% иммунодефицитных особей	0	30
	Уровень иммунных комплексов, у.е.	11.93±2.0	15.07±2.2*
	Содержание общих липидов, мг%	2265±45	2260±55
	Содержание малонового диальдегида, Нмоль/г ткани	7.41±1.9	10.22±2.0*
Константа окисления субстрата, л х мл-1 х мин-1	4.22±1.9	6.35±2.5*	

Примечание:.* – достоверно относительно контроля при P≤0.01.

и прооксидантно-оксидантный статус золотого карася.

Материал и методы исследования. Работа выполнена на сеголетках золотого карася *Carassius carassius* средней массой 60-67 г и длиной 17-18 см. В опыте использовали природную воду из р. Сунога. В эксперименте средняя температура воды составляла 17-19°C, содержание кислорода 4-5 мг/л, рН 7.2-7.4. Рыб содержали в плексиглазовых аквариумах объемом 150 л и ежедневно кормили сухим гранулированным кормом. Опытных карасей выдерживали в растворе сульфата меди (CuSO_4), а контрольных – в чистой воде. Воду меняли ежедневно, каждый раз добавляя свежий раствор токсиканта, который готовили непосредственно перед добавлением в аквариум. Конечная концентрация по действующему веществу – иону Cu^{2+} составляла 0,025 мг/л, что соответствовало $1/50$ от установленной 96 ч LC_{50} . После 30 дней экспозиции с токсикантом опытных рыб помещали в чистую воду на 45 сут («отмывка»). Отбор проб осуществляли от 10 особей в контрольной и опытной группе на 1, 7, 14, 30 и 75 сут от начала опыта.

В сыворотке крови определяли бактериостатическую активность (БАСК), долю иммунодефицитных особей (ИМД), содержание неспецифических иммунных комплексов (ИК); в тканях печени – количество общих липидов (ОЛ), интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и уровень антиокислительной защиты (АЗ).

БАСК выявляли нефелометрическим методом в модификации В.Р. Микрякова [11]. В качестве тест-микробов использовали суточную культуру *Aeromonas hydrophila*. В зависимости от уровня БАСК отбирали иммунодефицитных рыб (ИМД), сыворотка крови которых не угнетала развитие тест-микробов. Неспецифические иммунные комплексы (ИК) изучали методом селективной преципитации 7% полиэтиленгликолем молекулярной массы 6000 спектрофотометрически при длине волны 280 нм по методу Ю.А.Гриневиц и А.Н.Алферова [12]. Липиды из тканей печени экстрагировали и определяли стандартным методом по Фолчу [13]. Об уровне ПОЛ судили по накоплению малонового диальдегида (МДА) – одного из конечных продуктов перекисного окисления [14]. Интенсивность процессов АЗ устанавливали интегральным методом В.Л.Семенова и А.М.Ярош [15] по кинетике окисления восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха в присутствии и отсутствии тка-

невых экстрактов (КОС). Сущность метода заключается в том, что чем выше скорость окисления субстрата в присутствии биологического материала, тем ниже содержание антиоксидантов в тканях. Статистическую обработку результатов исследования проводили по стандартным алгоритмам, реализованным в пакете программ (Statistica) с использованием t-теста ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. Анализ результатов свидетельствует, что за период эксперимента зафиксирована 100%-ная выживаемость, поведение рыб не изменилось, патологий внутренних органов не выявлено.

Показатель БАСК, служащий интегрированным выражением противомикробных свойств гуморального звена неспецифического иммунитета: лизоцима, комплемента, пропердина, протеаз, С-реактивного белка, агглютининов, преципитинов и т.д., у опытных рыб на 7 сут повышался, а на 14 и 30 сут снижался по сравнению с контролем (табл.). После пересадки рыб в чистую воду зафиксировано нарастание уровня БАСК. Начиная с 14 сут, в опытной группе рыб появились ИМД особи.

Во все сроки наблюдения уровень ИК печени у опытных карасей превышал контрольные значения. ИК – комплексы, состоящие из антиген-антител и связанных с ними компонентов системы комплемента выполняют важную роль в процессах регуляции иммунных реакций, элиминации ксенобиотиков из организма и поддержании иммунофизиологического гомеостаза. При насыщении организма чужеродными телами, в том числе аутоантигенами и инфекционными агентами, происходит избыточное образование ИК вследствие снижения клиринговой функции клеток фагоцитарной системы. Повышенный уровень ИК является фактором, вызывающим супрессию механизмов иммунного гомеостаза [16-18]. По-видимому, повышенные показатели ИК у опытных рыб – одна из причин снижения БАСК и появления ИМД особей. Низкий уровень БАСК, высокая доля ИМД особей и нарастание количества ИК у опытных рыб свидетельствуют об иммуносупрессивном действии токсиканта на механизмы врожденного гуморального иммунитета.

Уровень липидов печени при содержании в растворе меди также отличался от контроля: на 14 и 30 сут содержание ОЛ было повышенным, затем, при переводе в чистую воду, – снизилось до нормы. Повышенная концентрация липидов вследствие их важной роли в адаптивных процессах, характер-

на для рыб, обитающих при высокой антропогенной нагрузке [19,20].

Содержание МДА у опытных рыб было достоверно выше контрольных показателей, начиная с 7 сут эксперимента. Повышенный уровень МДА свидетельствует об активации процессов ПОЛ и указывает на раннее проявление негативного токсического влияния меди на организм рыб и процессы окислительного стресса. Причина интенсификации ПОЛ – увеличение активных форм кислорода (супероксидный и гидроксильный радикалы, синглетный кислород, пероксиды и многие другие соединения) и снижение количества антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза) и низкомолекулярных антиоксидантных соединений (восстановленный глутатион, α -токоферол, фенольная форма коэнзима Q_{10} , β -каротин, аскорбиновая кислота и др.). На дефицит антиоксидантов у опытных карасей указывают повышенные показатели КОС. Высокий уровень содержания конечных продуктов ПОЛ и скорость КОС отражают дисбаланс в прооксидантно-антиоксидантной системе и служат причиной смещения равновесия ПОЛ \leftrightarrow АЗ в сторону интенсификации неконтролируемых процессов ПОЛ.

Изменение соотношения между ПОЛ и активностью процессов АЗ тканей считается одним из чувствительных индикаторов, отражающих влияние неблагоприятных стресс-факторов на метаболические процессы и состояние здоровья рыб. Важный механизм регуляции метаболических про-

цессов в любом организме – динамическое равновесие окислительно-восстановительных процессов, обеспечиваемое прооксидант-антиоксидантной системой [21]. Сдвиг баланса системы ПОЛ \leftrightarrow АЗ в организме опытных рыб в сторону интенсификации процессов ПОЛ приводит к окислительному стрессу. При оптимальных условиях соотношение этих систем жизнеобеспечения поддерживается на стационарном минимальном уровне [22-24]. При действии негативных стресс-факторов происходит активация процессов окислительного стресса, которая связана с избыточным накоплением АФК и снижением активности ферментных и неферментных антиоксидантов. Аналогичные нарушения выявлены у гидробионтов в районах с повышенной антропогенной нагрузкой [24-29].

Заключение. Хроническое воздействие низких концентраций меди вызывает супрессию антибиотической функции гуморального иммунитета и АЗ и повышение содержания ИК, ОЛ и продуктов ПОЛ в организме золотого карася. Помещение опытных рыб после 30-ой экспозиции с токсикантом в чистую воду для «отмывки» привело лишь к частичному восстановлению иммунобиохимического статуса рыб.

Установленные модификации в функционировании иммунобиохимических механизмов гомеостаза опытных рыб следует рассматривать как типичную реакцию рыб на загрязняющие вещества. Выявленные отличия в уровнях исследуемых показателей могут служить основой при разработке биотестов для оценки состояния здоровья рыб и качества воды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Будников К.Г. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем. Соросовский образоват. журн. Биология. 1998; 7 (5): 23 – 29.
- Перевозников М.А., Богданова Е.А. Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах. С-Петербург: Наука; 1999.
- Ребров В.Г., Громова О.А. Витамины, макро- и микроэлементы. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
- Bury N.R., Walker P.A., Glover C.N. Nutritive metal uptake in teleost fish. Journal of Experimental Biology. 2003; 206: 11 – 23.
- Moseley R., Hilton J.R. Waddington, R.J., Harding, K.G., Stephens, P. Thomas D.W. Comparison of oxidative stress biomarker profiles between acute and chronic wound environments. Wound Repair Regen. 2004; 12 (4): 419-429.
- Romeo M., Bennani N., Gnassia-Barelli M., Lafaurie M., Girard J.P. Cadmium and copper display different responses to wards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. Aqual. Toxicol. 2000; 48 (2-3): 185 – 194.
- Kamunde C., Grosell M., Higgs D., Wood C.M. Copper metabolism in actively growing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interactions between dietary and waterborne copper uptake. J. Experim. Biol. 2002; 205: 279 – 290.
- Леус Ю.В., Арсан В.О., Грубинко В.В. Прооксидантно-антиоксидантный статус организма карпа при действии ионов меди, марганца, свинца и цинка. ДАН. Украины. 1998; (7): 155 – 159.
- Силкина Н.И., Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние низких концентраций ионов меди на иммуно-биохимические показатели молоди карпа *Syrphius carpio*. Токсикологический вестник. 2009; (6): 13 – 16.
- Силкина Н.И., Микряков В.Р., Микряков Д.В. Влияние сублетальных концентраций ионов меди на показатели роста молоди карпа. Рыбоводство и рыб. х-во. 2011; (1): 61 – 64.
- Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН; 1991.
- Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. Лаб. дело. 1981; (8): 493 – 496.
- Folch J., Lees M., Stanley G.N. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues. J. Biol. Chem. 1957; 2(3): 497 – 509.
- Андреева Л.И., Кожемякин Н.А., Кишкун А.А. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лаб. дело. 1988; 11: 41 – 43.
- Семенов В.Л., Ярош А.М. Метод определения антиокислительной активности биологического материала. Укр. биохим. журн. 1985; 57(3): 50-52.
- Логинов С.И., Смирнов П.Н., Трунов А.Н. Иммунные комплексы у животных и человека: норма и патология. Новосибирск: Сиб. Отд-ние. ИЭВС и ДВ РАСХН; 1990.
- Ройт А., Бростовф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир; 2000.
- Койко Р., Саншайн Д. Бенджамини Э. Иммунология: учебное пособие. М.: Издательский центр «Академия»; 2008.
- Шатуновский М.И. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М.: Наука; 1980.
- Гершанович А.Д., Лапин В.И., Шатуновский М.И. Особенности обмена липидов у рыб. Успехи современной биологии. 1991; 3 (2): 207 – 219.
- Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г. Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука; 1992.
- Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания.

Новосибирск: АПА. 20284 с.

23. *Fiho W.D.* Fish antioxidant defences – A comparative approach. *Braz. J. Med. and Biol. Res.* 1996; 29 (12): 1735 – 1742.
24. *Winston G.W.* Oxidants and antioxidants in aquatic animals. *Comp. Biochem. and Physiol.* 1991; 100 (1-2): 173 – 176.
25. *Микряков В.Р., Силкина Н.И.,*

Микряков Д.В. Влияние антропогенного загрязнения на иммунологические и биохимические механизмы поддержания гомеостаза у рыб Черного моря. *Бiol. моря.* 2011; 37 (2): 142 – 148.

26. *Силкина Н.И., Микряков Д.В., Микряков В.Р.* Влияние антропогенного загрязнения на окислительные процессы в печени рыб Рыбинского

водохранилища. *Экология.* 2012; (5): 361 – 365.

27. *Силкина Н.И., Микряков Д.В., Микряков В.Р.* Некоторые иммунобиохимические показатели леща *Abramis brama*, обитающего в реке Кубань. *Экология.* 2013; (4): 296 – 299.

28. *Kuzminova N., Rudneva I., Salekhova L. Salekhova L., Shevchenko N., Oven L.* State of Black Scorpion fish

(*Scorpaena porcus L.*, 1758) inhabited coastal area of Sevastopol region (Black Sea) in 1998–20Turkish *J. Fish. Aquat. Sci.* 2011; (11): 101 – 111.

29. *Rudneva I.I., Kuzminova N.S.* Effect of chronic pollution on hepatic antioxidant system of Black Sea fish species. *Int. J. Sci. Nature.* 2011; 2 (2): 279 – 286.

REFERENCES:

1. *Budnikov G.K.* Heavy metals in environmental monitoring of aquatic systems. *Soros educational journal Biology.* 1998; 7 (5): 23 – (in Russian)
2. *Perevoznikov M.A., Bogdanova E.A.* Heavy metals in freshwater ecosystems. St. Petersburg: Nauka; 19(in Russian)
3. *Rebrov V.G., Gromova O.A.* Vitamins, macro – and micronutrients. Moscow: GEOTAR_Media; 20(in Russian)
4. *Bury N.R., Walker P.A., Glover C.N.* Nutritive metal uptake in teleost fish. *Journal of Experimental Biology.* 2003; 206: 11 – 23.
5. *Moseley R., Hilton J.R.* Waddington, R.J., Harding, K.G., Stephens, P. Thomas D.W. Comparison of oxidative stress biomarker profiles between acute and chronic wound environments. *Wound Repair Regen.* 2004; 12 (4): 419-429.
6. *Romeo M., Bennani N., Gnassia-Barelli M., Lafaurie M., Girard J.P.* Cadmium and copper display different responses to wards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aqual. Toxicol.* 2000; 48 (2-3): 185 – 194.
7. *Kamunde C., Grosell M., Higgs D., Wood C.M.* Copper metabolism in actively growing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interactions between dietary and waterborne copper uptake. *J. Experim. Biol.* 2002; 205: 279 – 290.
8. *Leus Yu.V., Arsan O.M.Y., Grubinko V.V.* Prooxidant-antioxidant status of the body of a carp under the action of ions of copper, manganese, lead and zinc. *DAN of Ukraine.* 1998; (7): 155 – 1(in Russian)
9. *Silkina N.I., Mikryakov D.V., Mikryakov V.R.* Effect of low concentrations of copper ions on immunobiochemical indices in the carp young (*Cyprinus Carpio*). *Toksikol. Vestn.* 2009; (6): 13 – (in Russian)
10. *Silkina N.I., Mikryakov V.R., Mikryakov D.V.* Influence of the sublethal concentrations of the copper ions to the indices of the growth of young carp. *Fish farming and fisheries.* 2011; 1: 61 – (in Russian)
11. *Mikryakov V.R.* Regularities of Formation of Acquired Immunity in Fishes. Rybinsk: IBIW RAN; 19(in Russian)
12. *Grinevich Y.A., Alferov A.N.* Determination of immune complexes in the blood of cancer patients. *Laboratory Practice.* 1981; (8): 493 – 4(in Russian)
13. *Folch J., Lees M., Stanley G.N.* A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 2(3): 497 – 509.
14. *Andreeva L.I., Kozhemyakin N.A., Kishkun A.A.* Modification of methods for determining lipid peroxides in the thiobarbituric acid test. *Laboratory Practice.* 1988; (11): 41 – (in Russian)
15. *Semenov V.L., Yarosh A.M.* Method for determination of antioxidant activity of biological material. *Ukr. biokhim. zhurn.* 1985; 57 (3): 50 – (in Russian)
16. *Loginov S.I., Smirnov P.N., Trunov A.N.* Immune Complexes in Animals and Humans: the Norm and Pathology. Novosibirsk: RASKhN, Sib. otd., Institute of Experimentally Veterinary Medicine of Siberia and Far East; 19(in Russian)
17. *Roitt I.M., Brostoff J., Male D.* Immunology. New York: Harper & Row; 1989.
18. *Kaiho R., Sunshine D. Benjamini E.* Immunology: a textbook. M.: Publishing center «Academy»; 20 (in Russian)
19. *Shatunovskii M.I.* Ecological Patterns of Metabolism in Marine Fishes. Moscow: Nauka; 19 (in Russian)
20. *Gershanovich A.D., Lapin V.I., Shatunovskii M.I.* Specific Features of Lipid Metabolism in Fishes. *Usp. Sovrem. Biol.* 1991; 3 (2): 207-2(in Russian)
21. *Baraboi V.A., Brekhman I.I., Golotin V.G., Kudryshov Yu.B.* Peroxidation and Stress. St. Petersburg: Nauka; 19(in Russian)
22. *Menshikova E.B., Zenkov N.K., Lankin, V.Z., Bondar I.A., Trufakin V.A.* Oxidative Stress: Pathological Conditions and Diseases. Novosibirsk: ARTA; 20(in Russian)
23. *Fiho W.D.* Fish antioxidant defences – A comparative approach. *Braz. J. Med. and Biol. Res.* 1996; 29 (12): 1735 – 1742.
24. *Winston G.W.* Oxidants and antioxidants in aquatic animals. *Comp. Biochem. and Physiol.* 1991; 100 (1-2): 173 – 176.
25. *Mikryakov V.R., Silkina N.I., Mikryakov D.V.* Effect of Anthropogenic Pollution on the Immunological and Biochemical Mechanisms of Maintaining Homeostasis in Fish of the Black Sea. *Russian Journal of Marine Biology.* 2011; 37 (2): 151 – 157. (in Russian)
26. *Silkina N.I., Mikryakov D.V., Mikryakov V.R.* Effect of Anthropogenic Pollution on Oxidative Processes in the Liver of Fish from the Rybinsk Reservoir. *Russian Journal of Ecology.* 2012; 43 (6): 386 – 389. (in Russian)
27. *Silkina N.I., Mikryakov D.V., Mikryakov V.R.* Specific Features of Immune Status and Lipid Metabolism in Bream, *Abramis brama L.* from the Kuban River. *Russian Journal of Ecology.* 2013; 44 (4): 332 – 335. (in Russian)
28. *Kuzminova N., Rudneva I., Salekhova L. Salekhova L., Shevchenko N., Oven L.* State of Black Scorpion fish (*Scorpaena porcus L.*, 1758) inhabited coastal area of Sevastopol region (Black Sea) in 1998–20Turkish *J. Fish. Aquat. Sci.* 2011; (11): 101 – 111.
29. *Rudneva I.I., Kuzminova N.S.* Effect of chronic pollution on hepatic antioxidant system of Black Sea fish species. *Int. J. Sci. Nature.* 2011; 2 (2): 279 – 286.

D.V. Mikryakov, N.I. Silkina, V.R. Mikryakov

SOME IMMUNOBIOCHEMICAL INDICES IN CRUCIAN CARP *CARASSIUS CARASSIUS* UNDER EXPOSURE TO SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF COPPER IONS

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

Results of investigations into some immunobiochemical indices in crucian carp at a chronic exposure to sublethal concentrations of copper ions are reported. Anti-microbial properties in the blood serum and a share of immunodeficient fishes were studied, in liver they were a content of non specific immune complexes, level of common lipids, content of lipid peroxidation products and antioxidant activity. The dependency of values of indices under consideration on how long fishes stayed under experimental conditions was shown.

Keywords: fish, copper ions, humoral immunity, lipids, pro-and anti-oxidant system.

Переработанный материал поступил в редакцию 28.06.2016 г.

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 592 : 615.9

МИКРООРГАНИЗМ *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS OPS-32*

Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрыбина¹, Л.И. Мялина¹,
Е.В. Буданова², Л.П. Сазонова¹, В.В. Колесникова¹,
Г.Г. Чуб¹

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, Российская Федерация

²ФГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет» им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, г. Москва, Российская Федерация

В статье приведена оценка токсичности и опасности микроорганизма *Bacillus amyloliquefaciens OPS-32*. На основании полученных данных для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована ПДК_{а.в.} штамма на уровне 5×10^3 кл/м³, 4 класс опасности.

Ключевые слова: микроорганизм, токсичность, опасность.

Штамм *Bacillus amyloliquefaciens OPS-32* выделен из почвы вокруг ризосферы яровой пшеницы, не является генетически модифицированным штаммом. *Bacillus amyloliquefaciens OPS-32* проявляет высокую антагонистическую активность в отношении широкого ряда фитопатогенных грибов, обладает устойчивостью к ряду антибиотиков и способен расти на средах с нафталином в качестве единственного источника углерода.

Штамм является активным компонентом микробиологического фунгицида Оргамика С (Orgamica S). Препарат предназначен для предпосевной обработки семян, для обработки сельскохозяйственных культур в период вегетации для защиты растений и посадочного материала от бактериальных и грибковых заболеваний в сельскохозяйственном производстве и личных подсобных хозяйствах.

Биофунгицид колонизирует корневую систе-

му растений, лишает фитопатогенные грибы источников питания и угнетает их рост выделяемыми метаболитами.

Механизм действия на целевой объект обусловлен возникновением антагонистических отношений между активными вегетативными клетками штамма *Bacillus amyloliquefaciens OPS-32* и вредоносным объектом, посредством воздействия антибиотиков, гидролитических ферментов, синтезируемых клетками штамма.

Клетки палочковидные размером (0,6–0,8x1,7–2,2) мкм, подвижные при помощи перитрихий, грамположительные, образуют споры, занимающие центральное положение и имеют овальную форму.

Штамм хорошо растет на следующих средах: мясо-пептонный агар (МПА), картофельно-глюкозный агар (КГА), LB-агар. Колонии штамма круглые, с фестончатым краем, центр выделен в виде кратера и заметно приподнят.

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natal'ja Ivanovna), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, ni_sheina@mail.ru

Скрыбина Эмилия Григорьевна (Skrjabina Jemilija Grigorevna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация

Мялина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vjacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, г. Москва, Российская Федерация, e.v.budanova@mail.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Чуб Галина Георгиевна (Chub Galina Georgievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Размеры колеблются от 5-8 до 12-15мм в диаметре в зависимости от ростовой среды и возраста колонии. Поверхность шероховатая, хорошо заметна тенденция к появлению складок. Край колонии может быть ровным, чаще складчатый, шероховатый.

Для культивирования используется LB-агар, оптимальная температура $(28 \pm 2)^{\circ}\text{C}$. Колонии плоские или слегка выпуклые, непрозрачные, матовые, молочно-белые, в агар не врастают; по консистенции вязкие и тягучие, поверхность колонии мягкая, но плотная.

В рамках проведенных экспериментальных исследований с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД) и установления ПДК штамма в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест были исследованы влияние микроорганизма на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммунотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы.

Обследование экспериментальных животных показало, что воздействие микроорганизма в изучаемых концентрациях (5×10^4 и 5×10^5 кл/м³) в течение 1 месяца не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось по динамике массы тела в процессе эксперимента и в восстановительном периоде, а также по величине коэффициентов массы внутренних органов. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии токсического действия штамма на организм крыс при хронической экспозиции в изученных концентрациях.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что коэффициенты массы селезенки и тимуса экспериментальных животных не различались с таковыми у животных контрольной группы.

В лейкограмме периферической крови не обнаружено изменений как относительного, так и абсолютного количества лимфоцитов, а также числа эозинофилов у подопытных животных.

При оценке сенсибилизирующей активности штамма в эксперименте на мышах не выявлено формирования клеточной реакции замедленного типа (ГЗТ) и гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) реагинового типа.

Изучаемый микроорганизм не вызывает им-

мунного ответа при используемом способе исследования и указанных уровнях воздействия. Не обнаружено образования специфических гуморальных антител (агглютининов) в сыворотке подопытных животных обеих групп.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне субхронического воздействия *Bacillus amyloliquefaciens* OPS-32 не происходило значимого изменения (дисбаланса) микробиоценоза кишечника крыс. Штамм не оказывал ощутимого влияния на показатели анаэробной составляющей (бифидобактерии, лактобациллы) микробиоценоза кишечника. Не изменялась высеваемость стафилококков, энтерококков и энтеробактерий у подопытных животных. Коэффициент массы слепой кишки не различался у крыс контрольной и подопытных групп. Однако в этот период воздействие штамма сопровождалось незначительными изменениями со стороны аэробных и факультативно-аэробных микроорганизмов кишечника, и прежде всего протеев.

В восстановительном периоде микрофлора кишечника крыс, подвергшихся воздействию микроорганизма в концентрации 5×10^5 кл/м³, по качественным и количественным показателям не отличалась от таковых контрольных животных.

Штамм при субхроническом воздействии в большей концентрации 5×10^5 кл/м³ не обладал способностью к диссеминации в кровь и внутренние органы (легкие, печень, почки, селезенка) экспериментальных животных ни через 1 месяц введения микроорганизма, ни через 2 недели восстановительного периода.

На основании полученных данных установлено, что пороговая концентрация воздействия штамма не была достигнута. В соответствии с этим величина ПДК в воздухе рабочей зоны устанавливается на уровне максимально рекомендованной МУ, а именно 5×10^4 кл/м³, 4 класс опасности. С учетом коэффициента запаса 10 для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована ПДК_{а.в.} штамма на уровне 5×10^3 кл/м³, 4 класс опасности.

Для близкородственного штамма *B. amyloliquefaciens* ВКПМ В-10291 продуцента α -амилазы установлены ПДК в воздухе рабочей зоны 5×10^4 кл/м³, в атмосфере – 5×10^3 кл/м³, пометка А, 4 класс опасности (ГН2.2.6.2178-07), что в целом находится на одном уровне с рекомендованной величиной для изучаемого штамма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленно-микробиологического синтеза.

Методические рекомендации РГМУ, М., 1992. – 22с.

2. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микро-

организмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. №5789/1-91.- М., 1991. – 22с.

3. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига и др. – 9-ое издание в 2-х томах. – М., «Мир», 1997. – Т.2.

REFERENCES:

1. Criteria of assessment the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. Method. Recommendations, Medical University. – Moscow, 1992. – 22p. (in Russian).
2. Guidelines on experimental justification of the limit permitted concentration of producing microorganisms and their containing strains products in industrial and environmental objects. №5789/1-91. – M., 1991. – 22p. (in Russian).
3. The determinant of bacteria Bergey. Ed. J. Hoult, N. Krig et al. – M., "Mir". – 1997. – V.2 (in Russian).

N.I. Sheina¹, J.G. Skryabina¹, L.I. Myalina¹, E.V. Budanova², L.P. Sazonova¹, V.V. Kolesnikova¹, G.G. Chub¹.

MICROORGANISM *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS OPS-32*

¹N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 117997 Moscow, RF Ministry of Healthcare, Russian Federation

²I.M. Sechenov Moscow State Medical University, RF Ministry of Healthcare, 119991 Moscow, Russian Federation

Hazard and toxicity assessment of the microorganism *Bacillus amyloliquefaciens* OPS-32 was performed. Based on data obtained, MAC^{atmospheric air} of the strain on the level of 5×10^3 cells/m³, hazard class 4 is recommended for the atmospheric air of residential areas.

Keywords: *microorganism, toxicity, hazard.*

Материал поступил в редакцию 29.02.2016 г.

«СЪЕЗДЫ И КОНФЕРЕНЦИИ»

10-Е СОВЕЩАНИЕ РАБОЧЕЙ ГРУППЫ ОТКРЫТОГО СОСТАВА БАЗЕЛЬСКОЙ КОНВЕНЦИИ О КОНТРОЛЕ ЗА ТРАНСГРАНИЧНОЙ ПЕРЕВОЗКОЙ ОПАСНЫХ ОТХОДОВ И ИХ УДАЛЕНИЕМ

В период с 30 мая по 02 июня 2016 года в г. Найроби (Кения) состоялось 10-е совещание Рабочей группы открытого состава Базельской конвенции о контроле за трансграничной перевозкой опасных отходов и их удалением. В совещании приняли участие представители стран-участников Базельской конвенции, стран-наблюдателей, а также представители международных организаций (IPEN – Международная сеть по ликвидации стойких органических загрязнителей, ИМО – международная морская организация и др.).

От Российской стороны в заседании приняли участие представители Минприроды России, Роспотребнадзора, ВНИИ Экологии.

На совещании обсуждены вопросы, касающиеся подготовки проектов общих и конкретных технических принципов экологически обоснованного регулирования и трансграничной перевозки опасных отходов, а также вопросы, связанные с проблемами, возникающими при обеспечении своевременного осуществления Конвенции и успешной деятельности Конференции Сторон и Рабочей группы открытого состава в последующие годы.

Решения, принятые на заседании Рабочей группы, нашли свое отражение в проектах подготовленных документов (CRP), которые будут утверждены протоколом заседания. Указанными проектами решений позволят обеспечить возможное принятие рассматриваемых проектов документов Конференцией Сторон на ее тринадцатом совещании.

По итогам проведения заседания Комитета были подготовлены и переданы заместителю Постоянного представителя Российской Федерации при международных организациях в Найроби (Республика Кения) предложения для составления итогового отчета, направляемого по установленным каналам в МИД России.

31 мая 2016 года состоялась рабочая встреча представителей российской делегации с представителями Секретариата Матисом Керном и Джульет Кохлер, в ходе которой обсуждены условия назначения ВНИИ Экологии Региональным центром Базельской конвенции по подготовке кадров и передачи технологии для стран Центральной и Восточной Европы, а также достигнута договоренность о завершении в максимально короткий срок не-

обходимых организационных мероприятий по приданию ВНИИ Экологии официально-го статуса Регионального центра. На встрече также была затронута проблема функционирования в Российской Федерации аналогичного Регионального центра по Стокгольмской конвенции. Российская делегация проинформировала Секретариат, что АНО «ЦМП» более не выполняет функции указанного центра, а также сообщила об осуществлении в настоящее время внутригосударственной процедуры определения организации, которая смогла бы эффективно и полноценно выполнять функции Регионального центра.

Наиболее острые дискуссии в рамках заседания развернулись при обсуждении технических руководящих принципов экологически обоснованного регулирования отходов, состоящих из стойких органических загрязнителей. Предложенные Европейским Союзом и Канадой значения содержания Стойких органических загрязнителей в составе отходов были встречены представителями российской делегации с настороженностью. Отмечено, что вопросы нормирования стойких органических соединений в отходах требуют дополнительной проработки с российскими научными и промышленными кругами. Кроме того, было отмечено, что улучшение работы по предотвращению образования отходов должно сопровождаться внедрением более экологически безопасных производств с использованием в технологическом процессе вместо опасных химических веществ менее опасных альтернатив для здоровья человека и среды его обитания, для чего в Роспотребнадзоре разработан и апробирован на примере перфторсоединений алгоритм проведения сравнительной оценки опасных химических веществ и их заменителей, который требует реализации на национальном уровне.

На совещании представителями Европейского Союза поднимался вопрос о необходимости оценки опасности отходов и класси-

фикации в соответствии с Согласованной на глобальном уровне системы классификации и маркировки химических веществ (СГС). Представителями Роспотребнадзора проявлена заинтересованность во внедрении СГС в практику оценки опасности отходов, так как 80% критериев указанной системы классификации касается здоровья человека.

В целом, принятые на заседании Рабочей группы решения, не противоречат российским интересам и содержат призывы странам-участникам принять участие в новом раунде обсуждений, осуществляемом в межсессионный период, с учетом полученных комментариев и предложений на заседании Рабочей группы, а Секретариату подготовить проекты решений по данным вопросам для утверждения на тринадцатом совещании Конференции сторон.

Для формирования российской позиции на 13-м совещании Конференции Сторон Базельской конвенции целесообразно более детально проработать предложенные Рабочей группой проекты решений. Полагаем, что Минприроды России как головное ведомство по Базельской конвенции, проведет соответствующие организационные мероприятия с целью выработки согласованной межведомственной позиции к участию в 13-м совещании Конференции сторон Базельской конвенции.

Принимая во внимание синергию между Базельской, Роттердамской и Стокгольмской конвенциями на 10-м совещании Рабочей группы открытого состава Базельской конвенции особенно остро поднимался вопрос соблюдения и исполнения положений конвенций.

*Директор ФБУЗ
«Российский регистр потенциально
опасных химических и биологических
веществ» Роспотребнадзора, Заведующий .
кафедрой гигиены РМАПО
Х.Х. Хамидулина*

9-ОЕ ЗАСЕДАНИЕ ЦЕЛЕВОЙ ГРУППЫ ОЭСР ПО ОЦЕНКЕ ОПАСНОСТИ

В период с 20 по 21 июня 2016 года в Париже (Франция) состоялось 9-е заседание Целевой группы ОЭСР по оценке опасности.

В качестве наблюдателей от Российской Федерации присутствовали представитель Роспотребнадзора – директор ФБУЗ «Российского регистра

потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора Х.Х.Хамидулина, а также три сотрудника ВНИЦ СМТ Росстандарта.

На заседании рассматривались следующие вопросы:

- Отчет Целевой группы ОЭСР по оценке опасности.
- Предложения по управлению деятельностью программы «Комплексные подходы для тестирования и оценки (IATA)».
- Внедрение маршрутов неблагоприятного исхода (АОР).
- Новые IT разработки и их обеспечение.
- Обсуждение проекта Руководящего документа по включению вопроса о биодоступности в Концепцию для оценки экологического риска и/или экологического стандарта качества (в частности, биодоступность неорганических металлов и их соединений).
- Пилотный проект по созданию Глобального перечня приоритетных химических веществ, опасность которых оценена и классифицирована в соответствии с Согласованной на глобальном уровне системой классификации и маркировки химических веществ (СГС).
- Рассмотрение подходов, направленных на характеристику химических веществ неизвестного и/или переменного состава или биологического происхождения (UVCBs) для оценки их опасности.
- Обсуждение необходимости обновления и пересмотра Акта Совета С(90)163 по совместному исследованию и снижению риска существующих химических веществ.

В отчете Целевой группы ОЭСР по оценке токсичности были сделаны акценты на достижения в совершенствовании работы eChemportal. Сегодня информационный ресурс его включает не только оценку опасности, но и классификацию веществ в соответствии с СГС.

Активным пользователем информационного портала ОЭСР является РФ, которая входит в топ 25 пользователей.

Отмечены результаты работы по оценке комбинированного воздействия химических веществ на организм человека. Определены приоритеты для оценки комбинированных экспозиций. Подготовлены проекты документов по характеристике опасности и экспозиции. Сформулированы соображения для определения рисков и формулированию неопределенности.

В рамках обсуждения использования оценки неблагоприятных исходов в развитии комплексных подходов к тестированию и оценке (IATA) представителем Роспотребнадзора была высказана позиция, что при широком использовании альтернативных методов исследования (*in silico*, *in chemico*, *in vitro*) для формирования объективной и систематической базы знаний механизмов реализации токсичности; для принятия регулирующего решения в случае прогнозирования высокой опасности химического вещества, высокого уровня неопределенности в полученной

информации, при невозможности интерпретировать нестандартные результаты скрининговых оценок настаивать на сохранении стандартных методов тестирования (*in vivo*). Предложение Российской Федерации было поддержано председателем заседания – руководителем делегации США.

В рамках обсуждения использования программы ОЭСР «Маршруты неблагоприятного исхода» (АОР) были предложены алгоритмы их реализации для изучения и регулирования химических веществ. АОР требуют более широкого использования современных моделей QSAR, а также надежных данных о токсичности и опасности, полученных как экспериментально, так и основываясь на материалах баз данных. В этой связи возрастает роль информационных источников и технологий.

На заседании были представлены инструменты IT технологий США, Канады, Австралии, Европейского Союза. Большой интерес вызвали базы ЕС, такие как IUCLID 6 и JRC (базы данных объединенного исследовательского центра).

Заслуживает внимания проект ОЭСР по созданию Глобального перечня приоритетных химических веществ, опасность которых оценена и классифицирована в соответствии с Согласованной на глобальном уровне системой классификации и маркировки химических веществ. Для осуществления данного проекта государства определяют приоритетные для классификации вещества, затем эксперты с использованием англоязычной информации осуществляют его классификацию. В пилотном проекте участвуют США, Евросоюз и РФ в лице ВНИЦ СМТ Росстандарта.

Представителем ФБУЗ «Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора в рамках заседания были проведены переговоры с руководителем Программ ОЭСР по оценке опасности и снижению риска Ивой Лейнала (Eeva Leinala) об участии научных институтов Роспотребнадзора в различных рабочих группах. Предложения Российской стороны были встречены с энтузиазмом. При заявленном участии в рабочих группах от российских специалистов потребуется свободное владение английским языком, т.к. деятельность рабочих групп осуществляется посредством телеконференций, вебинаров, обмена информацией по электронной почте.

**Директор ФБУЗ
«Российский регистр потенциально
опасных химических и биологических
веществ» Роспотребнадзора, Заведующий
кафедрой гигиены РМАПО
Х.Х. Хамидулина**

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Мамин Р. Г.

- *Урбанизация и экологическая безопасность территории новой Москвы*

Издательство: АСВ
Москва, 2015 г.
в обл., Страниц: 112,
ISBN: 978-5-4323-0043-0

Дмитренко В. П.

- *Экологическая безопасность в техносфере*

Издательство: Лань
Санкт-Петербург, 2016 г.
в пер., Страниц: 524, Тираж: 200
ISBN: 978-5-8114-2099-5

Максименко Ю. Л.

- *Охрана водных ресурсов*

Издательство: АСВ
Москва, 2015 г.
в пер., Страниц: 256,
ISBN: 978-5-4323-0061-4

Пачурин Г. В.

- *Экологическая оценка возобновляемых источников энергии*

Издательство: Лань
Санкт-Петербург, 2016 г.
в пер., Страниц: 236, Тираж: 100
ISBN: 978-5-8114-2218-0

Прохоров Б. Б.

- *Общая экология человека*

Издательство: Инфра-М
Москва, 2016 г.
в пер., Страниц: 424, Тираж: 500
ISBN: 978-5-16-010142-2

Бестужева А. С.

- *Гидроэкология. В 2-х ч.*

Издательство: МГСУ
Москва, 2015 г.
в обл., Страниц: 88, Тираж: 150
ISBN: 978-5-7264-1190-3

Тихонова И. О.

- *Основы экологического мониторинга*

Издательство: Форум
Москва, 2015 г.
в обл., Страниц: 240, Тираж: 500
ISBN: 978-5-00091-041-2

- *Водоотведение и водная экология*

Издательство: АСВ
Москва, 2016 г.
в обл., Страниц: 239, Тираж: 300
ISBN: 978-5-4323-0123-9

Умняков П. Н.

- *Безопасность жизнедеятельности предприятия легкой и текстильной промышленности*

Издательство: Форум
Москва, 2016 г.
в пер., Страниц: 208, Тираж: 300
ISBN: 978-5-00091-193-8

Абакумова Г. М.

- *Прозрачность атмосферы в Москве за последние 50 лет и ее изменения на территории России*

Издательство: ЛКИ
Москва, 2016 г.
в обл., Страниц: 188,
ISBN: 978-5-382-01696-2

Савич В. И.

- *Охрана почв*

Издательство: Проспект
Москва, 2016 г.
в пер., Страниц: 352, Тираж: 500
ISBN: 978-5-392-21194-4

- *Безопасность жизнедеятельности*

Издательство: МПСУ ; Воронеж : МОДЭК
Москва, 2016 г.
в обл., Страниц: 480, Тираж: 1000
ISBN: 978-5-9770-0896-9

ФБУЗ «РОССИЙСКИЙ РЕГИСТР ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ
ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ»
РОСПОТРЕБНАДЗОРА

ПРЕДЛАГАЕТ НОВУЮ ВЕРСИЮ

АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ РАСПРЕДЕЛЕННОЙ ИНФОРМАЦИОННО-ПОИСКОВОЙ СИСТЕМЫ (АРИПС) «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА», предоставляющей широкий спектр возможностей при разработке паспортов безопасности, MSDS, проектов выбросов, сбросов, классификации отходов производства и потребления, проведении мониторинга, оценки риска, экспертных работ.

АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ – электронная постоянно пополняемая база данных химических веществ, в том числе прошедших государственную регистрацию в системе Роспотребнадзора. По техническим характеристикам **АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ** представляет собой продукт, созданный с использованием последних достижений в области программирования. Использование современных методов разработки программного обеспечения позволило существенно расширить возможности предоставления информации. **АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ** содержит исчерпывающие сведения из ведущих отечественных и зарубежных баз данных. Вся информация представлена в структурированной форме, подобной информационной карте, составляемой на вещество при его государственной регистрации.

АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ включает в себя:

- физико-химические характеристики, данные о хранении, транспортировке, утилизации, пожаровзрывоопасность
- параметры токсикометрии (показатели острой токсичности при различных путях поступления, кумулятивности, оценку специфических и отдаленных эффектов)
- показатели экологической безопасности
- гигиенические и экологические нормативы: ОБУВ и ПДК загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест, ОБУВ и ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны, ОДУ и ПДК химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования и питьевой воды, ПДК и ОДК в почве, ДУ в продуктах питания, ПДК и ОБУВ вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение
- классы (категории) опасности по влиянию на

здоровье человека, окружающую природную среду, а также обусловленные физико-химическими свойствами в соответствии с СГС

- коды и фразы риска, маркировку, номера ООН, КЭМ и номера аварийных карточек при железнодорожных, морских и других видах перевозки
- нормативные и библиографические данные.

Предлагаемый программный продукт предоставляет пользователю следующие возможности:

- просмотр полной информации о веществе (более 300 характеристик)
- поиск конкретного вещества с одновременным использованием более 50 условий
- ускоренный поиск вещества по фрагменту названия IUPAC, торговому названию, синониму, номерам CAS, RTECS и EINECS, брутто формуле, дате и сроку регистрации
- вывод в файл, на печать, просмотр информации по конкретному веществу, списку веществ, сформированных в результате поиска по заданным параметрам
- актуализации и пополнения базы данных новыми веществами **АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ**

Минимальные требования к компьютеру: процессор Celeron 1,8, оперативная память – 1GB, свободное место на жестком диске 100 MB;

Требования к программному обеспечению: Windows XP Professional SP2, Windows Office 2003.

Более детальную информацию Вы можете найти на сайте www.RPOHV.ru

Если Вас заинтересовала эта информация, Вы можете связаться с нами и оставить свою заявку:

Адрес: 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19А
Многоканальный телефон: (499) 940-97-87
Факс: (499) 940-97-75
E-mail: secretary@rphv.ru
Веб-сайт: www.rphv.ru, www.rphbv.ru