



Масленников А.А., Ходыкина Н.В., Гришина М.А., Великородная Ю.И.,
Филатов Б.Н., Антонов В.А.

Экспериментальная оценка опасности хронического перорального воздействия несимметричного диметилгидразина

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» Федерального медико-биологического агентства, 400048, Волгоград, Россия

Введение. Проблема многолетнего загрязнения основных объектов окружающей среды и соответственно безопасности жизнедеятельности населения в связи с использованием несимметричного диметилгидразина в качестве компонента ракетного топлива представляется достаточно актуальной. При этом особая опасность заключается в длительном воздействии соединения в малых количествах.

Материалы и методы. В качестве объекта исследований использован несимметричный диметилгидразин (синонимы: гептил, 1,1-диметилгидразин $(\text{CH}_3)_2\text{N}_2\text{H}_2$, CAS № 57-14-7) с массовой долей вещества, равной 99%, и удельной плотностью $d_4^{20} = 0,7914 \text{ г/см}^3$. Гептил хорошо растворяется в воде. Токсикологические исследования на лабораторных животных выполнены исходя из требований действующих методических указаний.

Результаты. В ходе проведенного эксперимента установлено, что хроническое 6-месячное пероральное поступление несимметричного диметилгидразина в организм крыс в дозах $4 \cdot 10^{-4} \text{ мг/кг}$; $8 \cdot 10^{-5} \text{ мг/кг}$ и $1,5 \cdot 10^{-5} \text{ мг/кг}$ сопровождалось изменениями комплекса физиологических, поведенческих, гематологических, биохимических и иммунологических показателей. Зарегистрирована прямолинейная дозоэффективная зависимость как по широте, так и глубине эффекта. При этом максимальное количество статистически значимых изменений выявлено при воздействии соединения в наибольшем уровне и составило 26, из них 7 имели бисигмальные отклонения от аналогичных показателей в контрольной группе. Во второй опытной группе зафиксировано определенное снижение токсического эффекта, о чём свидетельствуют 14 существенных сдвигов показателей, 3 из которых выходили за пределы двух сигм относительно контроля. В третьей опытной группе животных рассматриваемое соотношение составило 4/0.

Ограничения. Исследования хронической токсичности несимметричного диметилгидразина выполнены в строгом соответствии с требованиями действующего нормативно-методического документа, что обеспечивает всестороннюю оценку состояния подопытных животных, а их необходимое количество в статистических группах — надёжность полученных результатов.

Заключение. На основании действующих диагностических критериев доза несимметричного диметилгидразина, равная $1,5 \cdot 10^{-5} \text{ мг/кг}$, принята в качестве порога хронического общетоксического действия. Выявленные особенности негативного влияния несимметричного диметилгидразина учтены при обосновании его ПДК в воде водоёмов.

Ключевые слова: вода; несимметричный диметилгидразин; пероральное хроническое общетоксическое действие; пороговая доза

Заключение комиссии по биомедицинской этике. Руководствуясь «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях» (ETS № 123, Страсбург, 1986), ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными» и другими нормативно-правовыми документами¹, Комиссия по биоэтике ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России установила соответствие материалов и методов, представленных в статье, современным международным и национальным этическим нормам проведения экспериментов с использованием лабораторных животных.

Для цитирования: Масленников А.А., Ходыкина Н.В., Гришина М.А., Великородная Ю.И., Филатов Б.Н., Антонов В.А. Экспериментальная оценка опасности хронического перорального воздействия несимметричного диметилгидразина. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(2): 231-236. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-2-231-236>

Для корреспонденции: Масленников Александр Александрович, доктор биол. наук, зав. лаб. экологической токсикологии ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России, 400048, Волгоград, Россия. E-mail: maslennikov@rihtop.ru

Участие авторов: Масленников А.А. — концепция и дизайн исследования, написание текста; Ходыкина Н.В., Великородная Ю.И. — сбор и обработка материала; Гришина М.А. — статистическая обработка данных; Филатов Б.Н. — редактирование; Антонов В.А. — концепция и дизайн исследования. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование проведено в рамках Государственного контракта на 2019–2020 гг. по теме «Экспериментальное обоснование предельно допустимой концентрации несимметричного диметилгидразина в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования».

Поступила: 11.06.2021 / Принята к печати: 25.11.2021 / Опубликована: 10.03.2022

¹ ГОСТ 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ; 2014.

Aleksandr A. Maslennikov, Nina V. Khodykina, Marina A. Grishina, Yulia I. Velikorodnaya,
Boris N. Filatov, Valery A. Antonov

Experimental risk assessment of chronic oral exposure to unsymmetrical dimethylhydrazine

Research Institute for Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology» at Federal Medical and Biological Agency, Volgograd, 400048, Russian Federation

Introduction. The problem of long-term pollution of primary environment objects and, accordingly, the safety of population lives in connection with unsymmetrical dimethylhydrazine as a component rocket fuel seems to be quite urgent. In this case, the danger lies in the prolonged exposure to the compound in small quantities.

Materials and methods. As the object of these studies, we used unsymmetrical dimethylhydrazine (“heptyl”, 1,1-dimethylhydrazine $(\text{CH}_3)_2\text{N}_2\text{H}_2$, CAS No. 57-14-7) with the substance mass fraction equal to 99.0% and the specific gravity $d_4^{20} = 0.7914 \text{ g/cm}^3$. “Heptyl” is highly soluble in water. Toxicological studies on laboratory animals were carried out following the requirements of the current guidelines.

Results. In the course of the experimental studies, chronic 6-month oral intake of unsymmetrical dimethylhydrazine in rats at doses of $4.0 \cdot 10^{-4} \text{ mg/kg}$, $8.0 \cdot 10^{-5} \text{ mg/kg}$ and $1.5 \cdot 10^{-5} \text{ mg/kg}$ was accompanied by changes in the complex of physiological, behavioural, haematological, biochemical and

immunological parameters. The linear dose-effect dependence was registered both in the width and depth of the effect. At the same time, the maximum number of statistically significant changes was revealed when exposed to the compound at the highest level and amounted to 26, of which 7 had bisignal deviations from similar indices in the control group. In the second experimental group, a specific decrease in the toxic effect was recorded, as evidenced by 14 significant shifts in indicators, 3 of which went beyond two sigmas relative to control. In the third experimental group of animals, the considered ratio was 4/0. Conclusions. Based on the current diagnostic criteria, the dose of unsymmetrical dimethylhydrazine $1.5 \cdot 10^{-5}$ mg/kg was adopted as the threshold for chronic general toxic action. The revealed features of the negative impact of unsymmetrical dimethylhydrazine were taken into account when substantiating its MPC in water bodies.

Keywords: water; unsymmetrical dimethylhydrazine; oral chronic general toxic action; threshold dose

Compliance with ethical standards. Guided by the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or Scientific Purposes” (ETS No. 123, Strasbourg, 1986), GOST 33216-2014 “Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals” and other regulatory documents, the Commission for bioethics of the Research Institute for Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology established the compliance of the materials and methods presented in the article with modern international and national ethical standards for conducting experiments using laboratory animals.

For citation: Maslennikov A.A., Khodykina N.V., Grishina M.A., Velikorodnaya Yu.I., Filatov B.N., Antonov V.A. Experimental risk assessment of chronic oral exposure to unsymmetrical dimethylhydrazine. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(2): 231-236. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-2-231-236> (In Russ.)

For correspondence: Aleksandr A. Maslennikov, MD, PhD, DSci., Head of Ecological Toxicology Laboratory, Research Institute for Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology, Volgograd, 400048, Russian Federation. E-mail: maslennikov@rihtop.ru

Information about the authors:

Maslennikov A.A., <https://orcid.org/0000-0001-5121-5616>

Khodykina N.V., <https://orcid.org/0000-0002-3136-4195>

Grishina M.A., <https://orcid.org/0000-0001-8606-7342>

Velikorodnaya Yu.I., <https://orcid.org/0000-0003-2976-6352>

Filatov B.N., <https://orcid.org/0000-0002-2502-8814>

Antonov V.A., <https://orcid.org/0000-0001-6435-4316>

Contribution. Maslennikov A.A. – research concept and design, writing text; Antonov V.A. – research concept and design; Khodykina N.V., Velikorodnaya Yu.I. – data collection and processing; Grishina M.A. – statistical data processing; Filatov B.N. – editing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study was carried out within the framework of the State Contract for 2019–2020 “Experimental substantiation of the maximum permissible concentration of unsymmetrical dimethylhydrazine in the water of water bodies for domestic, drinking and cultural water use”.

Received: June 26, 2021 / Accepted: November 25, 2021 / Published: March 10, 2022

Введение

Проблема загрязнения основных объектов окружающей среды и соответственно безопасности жизнедеятельности человека в связи с многолетним использованием в качестве компонента ракетного топлива несимметричного диметилгидразина (НДМГ) представляется достаточно актуальной. НДМГ десятки лет применяется на многих отечественных и зарубежных ракетах-носителях, разгонных блоках, космических аппаратах, межконтинентальных баллистических ракетах. В связи с широкими масштабами применения его производство является многотоннажным [1–5].

В процессе запуска ракет и при последующем падении отделившихся частей ракет-носителей происходит неполная выработка гептила. При этом количество токсиканта, попадающего в почву, атмосферу, грунтовые и поверхностные воды за счёт случайных проливов, оценивается примерно в 300 т/год. В отдельных местах падения ступеней ракет концентрация НДМГ спустя год может достигать многих десятков ПДК [6–10].

Находясь в объектах окружающей среды, НДМГ трансформируется в другие более стойкие и токсичные формы, сохраняя при этом опасность негативного воздействия на различные экосистемы и на организм человека [11–16]. Гептил является высокотоксичным соединением. При попадании в организм помимо общерезорбтивного действия вызывает отдалённые последствия. Всемирной организацией здравоохранения он внесён в список особо опасных химических веществ (1-й класс) [5, 17–23].

Общеизвестно, что основой для выявления зависимости между состоянием здоровья и влиянием химического фактора является наличие гигиенических регламентов, ограничивающих содержание вредных веществ в различных средах².

Следует отметить, что действующая ПДК гептила ($0,02$ мг/дм³) в воде водоёмов обоснована более полувека назад (1962 г.) [24] и разработана без использования ряда санитарно-токсикологических методов исследований, которые на тот момент не существовали.

² Федеральный закон от 30.03.1999 г. № 52-ФЗ (ред. от 13.07.2020 г.) «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» [Электронный ресурс]. Доступно из справ.-правовой системы «Консультант Плюс» (дата обращения: 12.05.2021 г.).

Данное обстоятельство предопределило необходимость нового экспериментального обоснования ПДК НДМГ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования.

Как известно, одним из ключевых разделов гигиенического нормирования любого химического соединения в воде является хронический эксперимент. Исходя из этого цель настоящей работы заключалась в оценке общетоксического действия несимметричного диметилгидразина при хроническом внутрижелудочном поступлении в организм лабораторных животных с определением пороговой дозы.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использован несимметричный диметилгидразин (гептил, 1,1-диметилгидразин $(\text{CH}_3)_2\text{N}_2\text{H}_2$, CAS № 57-14-7) с массовой долей вещества, равной 99%, и удельной плотностью $d_4^{20} = 0,7914$ г/см³. Данное соединение представляет собой бесцветную или слегка желтоватую жидкость с резким сильно раздражающим неприятным аммиачным запахом, характерным для органических аминов. Температура кипения гептила – плюс $63,1$ °С, температура кристаллизации – минус $57,2$ °С, давление насыщенных паров при плюс 20 °С составляет $122,4$ мм рт. ст., а летучесть при плюс 25 °С равна 500 мг/мл [25]. Гептил хорошо растворяется в воде, водных растворах кислот, спиртах, аминах и в ряде органических растворителей (многих углеводородах, эфирах, спиртах) [26].

С учётом положений действующих методических указаний [27] при выборе уровней воздействия НДМГ исходили из полученных в предварительных опытах величин среднесмертельной дозы ($\text{LD}_{50} = 157,92$ мг/кг) и пороговой дозы подострого эксперимента ($\text{ПД}_{\text{пэк}} = 0,005$ мг/кг), необходимых для расчёта способности вещества к кумуляции, с использованием известного отношения $\text{LD}_{50}/\text{ПД}_{\text{пэк}}$. Данное соотношение ($157,92 : 0,005$) доказывает, что тестируемое соединение относится к классу 1 – чрезвычайно опасные вещества ($> 10^4$) [27].

Кроме того, для определения более точных значений доз в хроническом опыте принимали во внимание результаты ранее выполненных собственных исследований, свидетельствующие о том, что НДМГ на уровне установленной ПДК

вещества для воды водоёмов (0,02 мг/л) и несколько ниже её на протяжении 6-месячного эксперимента оказывал негативное влияние на состояние самцов крыс, выражавшееся в изменении значительного количества физиологических, поведенческих, гематологических, биохимических, иммунологических и патоморфологических показателей [28].

Основываясь на этих данных, при постановке хронического эксперимента (продолжительность 6 мес) тестируемое соединение испытывали в следующих дозах: $4 \cdot 10^{-4}$ мг/кг ($8 \cdot 10^{-3}$ мг/л) – 1-я опытная группа; $8 \cdot 10^{-5}$ мг/кг ($1,6 \cdot 10^{-3}$ мг/л) – 2-я опытная группа и $1,5 \cdot 10^{-5}$ мг/кг ($3 \cdot 10^{-4}$ мг/л) – 3-я опытная группа. Выбор интервала между дозами обусловлен приведённым выше результатом исследований, подтверждающим чрезвычайную опасность НДМГ по способности к кумуляции.

Токсикометрические исследования на лабораторных животных выполнены в соответствии с методическими указаниями [27]. В качестве биомодели использованы 192 белые беспородные крысы (самцы) с исходной массой тела 200–220 г (по 8 особей в трёх опытных и контрольной группах на каждый период исследования).

Опыт проведён с учётом принципов гуманного обращения с экспериментальными животными. Водные растворы токсиканта готовили ежедневно непосредственно перед введением подопытным особям в желудок при помощи зонда из расчёта 1 мл на 100 г массы тела. Особи контрольных групп получали адекватные объёмы дистиллированной воды.

Общезеробтивное действие вещества оценивали по клинической картине отравления, а также с помощью комплекса необходимых тестов.

При характеристике функционального состояния организма животных определяли динамику массы тела (весы электронные РС-100W-5, Acom Inc., Корея), частоту дыхательных движений (визуально) и сердечных сокращений (электрокардиограф Medinova ECG-9801, КНР), порог реакции на тепловое воздействие («горячая/холодная плита», PE-34, ИТС Life Science, США), поведенческие реакции (в установке «открытое поле»).

В периферической крови крыс-самцов на автоматическом гематологическом анализаторе PCE-210 (ERMA, Япония) регистрировали количество эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов, моноцитов, тромбоцитов, а также содержание гемоглобина и показатель гематокрита.

Сравнительному биохимическому анализу подвергали сыворотку крови подопытных и контрольных животных. При этом на автоматическом биохимическом анализаторе ChemWell 2910 (США) устанавливали содержание общего белка, альбумина, глюкозы, триглицеридов, холестерина, мочевины, креатинина, молочной кислоты, общего билирубина, малонового диальдегида (МДА), активность аланиновой трансаминазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы, аспарагиновой трансаминазы. Уровень пировиноградной кислоты (ПВК) определяли стандартным спектрофотометрическим методом [29].

Для гистологического исследования брали образцы следующих органов и тканей: головной мозг, печень, миокард, лёгкое, почка, желудок, тонкий кишечник, надпочечники, тимус, селезёнка. Микрпрепараты изучали с помощью микроскопа AxioScore.A1 (ZEISS, ФРГ).

В сыворотке крови крыс оценку активности системы комплемента, лизоцимную активность (с культурой клеток *Micrococcus lysodeikticus*), бактерицидную активность, уровень общих иммуноглобулинов (по реакции помутнения белков сыворотки с сульфатом цинка) регистрировали колориметрически на планшетном фотометре Multiscan Ascent (Thermo Scientific, Финляндия). Об уровне «естественных» антител к сальмонеллёзному V-антигену в крови животных судили по интенсивности реакции гемоглолитинации. Функциональную способность клеток гранулоцитарного ряда к фагоцитозу устанавливали по интенсивности спонтанной и индуцированной опсонизированным зимозаном хемилюминесценции на люминометре Luminoscan Ascent (Thermo Scientific, Финляндия).

В течение всего периода воздействия проводили ежедневный осмотр крыс для выявления возможных признаков интоксикации. По окончании каждого месяца опыта животных всех групп обследовали с применением вышеуказанных физиологических тестов и поведенческих реакций. Наряду с этим осуществляли забор крови для гематологических, биохимических и иммунологических исследований, после чего животных умерщвляли методом декапитации (гильотина для крыс, АЕ0702 «НПК Открытая Наука», Россия) для патоморфологической оценки внутренних органов и расчёта их относительной массы.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью *t*-критерия Стьюдента, используя пакет Primer of Biostatistics 4.03 (различия считали достоверными при $p \leq 0,05$) [30].

Результаты

В процессе проведения эксперимента установлено, что 6-месячное пероральное поступление соединения во всех дозах не оказывало негативного влияния на общее состояние подопытных особей, имевших удовлетворительный внешний вид и идентичный контролю прирост массы тела.

Помимо указанного в ходе периодического обследования подопытных животных у них не выявлено существенных в сопоставлении с контрольными значениями изменений порога реакции на тепловое воздействие.

Однако по завершении первого месяца опыта у животных, подвергавшихся воздействию НДМГ во всех дозах, обнаружено статистически значимое снижение частоты дыхательных движений. Данное изменение сохранялось у крыс первой группы и по окончании второго месяца эксперимента (см. таблицу).

Кроме того, у животных, получавших вещество в большей дозе (после трёх месяцев опыта), и у крыс второй опытной группы (4-й месяц эксперимента) зарегистрирована достоверная брадикардия.

В ходе оценки поведенческих реакций в отсутствие существенных изменений показателей двигательной и эмоциональной активности, а также груминга у подопытных особей всех групп после трёхмесячного периода воздействия вещества выявлено статистически значимое подавление норкового рефлекса, значения которого выходили за пределы бисигмального отклонения контроля у крыс, получавших соединение в двух больших дозах.

В то же время после пятого месяца опыта значение указанного показателя у животных первой опытной группы сменилось достоверным повышением (см. таблицу).

Анализ гемограммы подопытных самцов позволил установить, что вещество со второго по пятый месяц эксперимента вызывало единичные изменения отдельных показателей только в первой группе крыс. В частности, после двух месяцев внутрижелудочного введения НДМГ отмечено достоверное уменьшение численности эритроцитов, а через три месяца – тромбоцитов, имевшее односторонний характер изменений данного показателя к концу четвёртого месяца опыта.

Кроме того, введение подопытным животным токсиканта в дозе $4 \cdot 10^{-4}$ мг/кг на протяжении пяти месяцев способствовало существенному снижению количества гранулоцитов (см. таблицу). Напротив, по завершении хронического эксперимента у подопытных особей выявлено значительное увеличение количества сдвигов показателей красной и белой крови. Так, в первой и второй опытных группах крыс зарегистрировано достоверное, с выходом за пределы двух сигм контрольного значения, понижение уровня гемоглобина. Помимо этого у данных подопытных самцов установлено статистически значимое уменьшение численности лейкоцитов, носившее характер бисигмальных отклонений у животных первой опытной группы. К тому же у крыс указанных групп выявлено снижение численности моноцитов (см. таблицу).

Во всех опытных группах животных определён аналогичный односторонний характер изменений количества

Достоверные изменения, обнаруженные в процессе хронического эксперимента
Significant changes found during the chronic experiment

Показатели и единицы измерений Indices and units of measurement	Срок выявления изменений, месяц Change detection period, month	Дозы вещества, мг/кг Substance doses, mg/kg			Контроль Control
		4,0 · 10 ⁻⁴	8,0 · 10 ⁻⁵	1,5 · 10 ⁻⁵	
<i>Физиологические тесты / Physiological Tests</i>					
Частота дыхательных движений в 1 мин Respiratory rate per minute	1-й / 1 st	78.50 ± 7.21*	80.00 ± 2.83*	87.00 ± 3.98*	107.00 ± 6.45
	2-й / 2 nd	82.29 ± 6.16*	89.57 ± 8.61	86.00 ± 10.66	110.90 ± 6.28
Частота сердечных сокращений в 1 мин Heart rate per minute	3-й / 3 rd	460.0 ± 12.5*	480.0 ± 19.3	472.5 ± 14.6	492.5 ± 7.5
	4-й / 4 nd	471.4 ± 13.0	435.7 ± 16.2*	477.1 ± 16.6	495.0 ± 11.2
<i>Поведенческие реакции / Behavioural reactions</i>					
Норковый рефлекс, усл. ед. Mink reflex, conv. units	3-й / 3 rd	1.43 ± 0.43**	1.50 ± 0.38**	2.75 ± 0.70*	4.75 ± 0.56
	5-й / 5 th	3.80 ± 0.81*	3.20 ± 0.84	2.20 ± 0.51	1.60 ± 0.40
<i>Гематологические данные / Hematological data</i>					
Эритроциты, ·10 ¹² /л (Erythrocytes, ·10 ¹² /L)	2-й / 2 nd	7.36 ± 0.15*	7.96 ± 0.15	7.92 ± 0.18	7.86 ± 0.15
Гемоглобин, г/л (Hemoglobin, g/L)	6-й / 6 th	148.8 ± 10.4**	151.3 ± 10.2**	178.6 ± 6.7	176.3 ± 2.48
Лейкоциты, ·10 ⁹ /л (Leukocytes, ·10 ⁹ /L)	6-й / 6 th	6.37 ± 1.14**	6.82 ± 0.86*	8.57 ± 1.61	11.54 ± 0.86
Гранулоциты, ·10 ⁹ /л (Granulocytes, ·10 ⁹ /L)	5-й / 5 th	1.77 ± 0.21*	3.13 ± 0.57	2.33 ± 0.42	3.47 ± 0.39
Лимфоциты, ·10 ⁹ /л (Lymphocytes, ·10 ⁹ /L)	6-й / 6 th	3.59 ± 0.59**	5.31 ± 0.99*	4.80 ± 0.79*	8.09 ± 0.64
Моноциты, ·10 ⁹ /л (Monocytes, ·10 ⁹ /L)	6-й / 6 th	0.21 ± 0.06*	0.26 ± 0.03*	0.32 ± 0.05	0.39 ± 0.04
Тромбоциты, ·10 ⁹ /л (Platelets, ·10 ⁹ /L)	3-й / 3 rd	436.6 ± 18.7*	546.9 ± 25.8	478.6 ± 34.3	536.7 ± 36.9
	4-й / 4 nd	451.5 ± 26.2*	440.8 ± 95.8	529.6 ± 34.9	587.2 ± 37.5
<i>Биохимические характеристики / Biochemical characteristics</i>					
АЛТ, мкмоль/с·л (ALT, μmol/d·L)	2-й / 2 nd	114.6 ± 1.9*	92.1 ± 6.9	85.0 ± 6.5	97.1 ± 6.6
	6-й / 6 th	93.7 ± 7.3*	87.0 ± 3.6*	100.0 ± 6.9	117.4 ± 8.0
Мочевина, ммоль/л (Urea, mmol/L)	6-й / 6 th	3.946 ± 0.262	3.229 ± 0.251*	4.661 ± 0.330	4.309 ± 0.266
ПВК, мкмоль/л (PVC, μmol/L)	4-й / 4 nd	50.24 ± 1.61	47.16 ± 0.87*	50.59 ± 1.03	50.48 ± 0.89
Глюкоза, ммоль/л (Glucose, mmol/L)	4-й / 4 nd	5.720 ± 0.254	4.970 ± 0.100*	6.037 ± 0.124	5.759 ± 0.177
Холестерин, ммоль/л (Cholesterol, mmol/L)	5-й / 5 th	1.427 ± 0.093*	1.856 ± 0.118	1.655 ± 0.059	1.658 ± 0.052
МДА, мкмоль/л (MDA, μmol/L)	5-й / 5 th	11.10 ± 0.30*	11.67 ± 1.18	11.77 ± 0.31	13.57 ± 1.07
	6-й / 6 th	10.31 ± 0.18*	11.15 ± 0.23	10.79 ± 0.29	11.18 ± 0.25
<i>Иммунологический статус / Immunological status</i>					
Интенсивность индуцированной фагоцитарной активности нейтрофилов, усл. ед. Intensity of neutrophils induced phagocytic activity, conv. Units	2-й / 2 nd	1446.6 ± 150.3*	797.1 ± 198.8	1025.3 ± 193.9	945.3 ± 139.0
Розеткообразование Т-лимфоцитов, % T-lymphocytes rosette formation, %	2-й / 2 nd	44.00 ± 2.07**	49.63 ± 1.31*	48.75 ± 1.83*	56.63 ± 2.06
Гемолитическая активность комплемента, усл. ед. Complement hemolytic activity, conv. units	3-й / 3 rd	186.1 ± 12.8**	181.6 ± 14.8**	216.3 ± 15.6	221.2 ± 5.6
	4-й / 4 nd	274.5 ± 11.9*	236.5 ± 15.5	238.8 ± 5.7	212.0 ± 12.9
Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови, усл. ед. Immunoglobulins concentration in blood serum, conv. unit	5-й / 5 th	7.28 ± 0.38**	5.50 ± 0.19	5.86 ± 0.22	5.20 ± 0.26
	6-й / 6 th	5.68 ± 0.19*	6.70 ± 0.25*	7.01 ± 0.31	8.30 ± 0.57
Концентрация лизоцима в сыворотке крови, мкг/мл Lysozyme concentration in blood serum, μg/ml	6-й / 6 th	13.26 ± 0.91*	14.85 ± 0.47	14.23 ± 0.77	16.54 ± 0.88
Бактерицидная активность сыворотки крови, усл. ед. Blood serum bactericidal activity, conv. units	6-й / 6 th	22.04 ± 1.07*	17.43 ± 1.22	16.99 ± 1.66	18.60 ± 0.68
Количество достоверных изменений при $p \leq 0,05$ Number of significant changes at $p \leq 0,05$		26	14	4	—
Отклонения, выходящие за пределы $M \pm 2\sigma$ контроля Deviations outside the limits of $M \pm 2\sigma$ control		7	3	0	—

Примечание. * — статистически значимые различия при $p \leq 0,05$ и находящиеся в пределах ($M \pm 2\sigma$) показателей контрольной группы животных; ** — статистически значимые различия при $p \leq 0,05$, выходящие за пределы ($M \pm 2\sigma$) показателей контрольной группы животных.

Note: * denotes statistically significant differences at $p \leq 0.05$ and within limits ($M \pm 2\sigma$) indices of the animal's control group; ** denotes statistically significant differences at $p \leq 0.05$ and outside the limits ($M \pm 2\sigma$) indicators of the animals control group.

лимфоцитов, выходящих за пределы двух сигм контрольного значения у животных, получавших соединение в большей дозе.

Результаты биохимических исследований крови животных, подвергавшихся хроническому воздействию НДМГ, свидетельствуют о том, что длительное пероральное поступление токсиканта на протяжении всего эксперимента вызывало в организме крыс определённые метаболические сдвиги, указывающие на модификацию обмена веществ. При этом обнаруженные отклонения были немногочисленными и не носили характера грубой патологии. В частности, через два месяца после начала опыта установлено только умеренное (на 18%) увеличение активности АЛТ у подопытных крыс первой группы, которое с учётом основного биохимического механизма действия токсиканта (нарушение синтеза кофермента трансминаз) может быть признано адаптивным (см. таблицу). После 4-месячного периода воздействия у животных второй группы отмечено снижение на 7% уровня ПВК в крови и слабо выраженная гипогликемия (на 14% относительно исходного показателя), связанные, вероятно, с адаптивным повышением уровня углеводного обмена. На протяжении ежедневных экспозиций веществом до пяти месяцев экспериментальные животные первой опытной группы отреагировали снижением уровня холестерина (на 14%). К указанному сроку у подопытных особей данной группы зарегистрировано снижение уровня МДА (на 18,2%), что свидетельствует в пользу активации механизмов антипериксисной защиты при продолжающемся поступлении НДМГ. К окончанию эксперимента (6 мес) у крыс первой и второй опытных групп также выявлены достоверные метаболические сдвиги, однако в отличие от установленных ранее исключительно адаптивных изменений к этому сроку проявилось и патогенетически значимое понижение АЛТ (на 20 и 26% соответственно). При этом у животных, получавших токсикант в высшей дозе, активность антиперексисной ферментной системы осталась повышенной (достоверное снижение МДА на 8%). Снижение уровня мочевины в крови крыс второй группы (на 25%) могло быть обусловлено как замедлением её синтеза в печени, так и повышенным расходом в качестве эндогенного антиоксиданта. У животных, экспонированных НДМГ в нижней дозе (3-я группа), на протяжении хронического опыта статистически значимых отклонений исследованных биохимических показателей не установлено (см. таблицу).

Расчёт относительной массы внутренних органов мелких лабораторных грызунов не выявил значимых отличий в показателях опытных и контрольной групп.

При патоморфологическом исследовании внутренних органов и тканей животных однократно через 4 мес после начала эксперимента установлены изменения в гистоархитектонике исследуемых органов и тканей подопытных животных, получавших НДМГ только в высшей дозе. Так, в перипортальных зонах печёночных долек зарегистрированы мультифокальные некрозы клеток печени. Степень выраженности патологического процесса была различной: от некроза единичных гепатоцитов до крупноочаговой гибели клеток. Вокруг зон некрозов, а также в расположенных рядом синусоидных капиллярах между печёночными балками отмечено скопление гистиолимфоцитарных элементов, что указывало на стадию разрешения некроза с восстановлением морфофункциональных свойств ткани печени после воздействия токсиканта.

Проведённая оценка иммунотоксического действия НДМГ свидетельствует об отклонении (после двух месяцев воздействия) показателя фагоцитарной активности нейтрофилов: индуцированная метаболическая активность фагоцитов крови подопытных животных 1-й группы достоверно превышала значение контрольного показателя хемиллюминесценции нейтрофильных лейкоцитов (см. таблицу).

Помимо указанного вещества в данный период оказывало влияние и на механизмы адаптивного иммунитета. Хотя содержание В-лимфоцитов в селезёнке подопытных крыс не отличалось от контрольного, количество Т-лимфоцитов у животных опытных групп было достоверно снижено и выходило у особей первой группы за границы бисигмального диапазона колебаний параллельного контроля.

По окончании трёх месяцев опыта у животных первой и второй опытных групп зарегистрировано статистически значимое понижение гемолитической активности комплемента, выходящее за пределы 2 σ параллельного контроля. Достоверное увеличение значения данного показателя обнаружено у самцов первой опытной группы после четырёх месяцев воздействия НДМГ.

Через пять месяцев проведения эксперимента выявлено значительное повышение концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови у экспериментальных крыс первой группы, причём отклонение этого показателя иммунитета имело статистическую достоверность, выходящую за пределы 2 σ параллельного контроля (см. таблицу).

По завершении шести месяцев введения НДМГ сохранились тенденции к изменению показателей гуморального иммунитета. В частности, зафиксированы статистически значимые различия в концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови у крыс первой и второй опытных групп, лизоцима у животных, получавших вещество в максимальной дозе, и повышение уровня бактерицидности сыворотки крови у крыс 1-й группы в сравнении с крысами групп контроля. Воздействие соединения в минимальной дозе не вызывало у экспериментальных животных изменений показателей клеточного и гуморального иммунитета (см. таблицу).

Обсуждение

Обобщённый анализ полученных данных свидетельствует о том, что НДМГ на всём протяжении хронического внутрижелудочного поступления оказывал негативное влияние на организм подопытных крыс. Причём максимальное количество изменений определяемых показателей отмечено в конце 6-месячного периода воздействия, что свидетельствует о проявлении у соединения кумулятивных свойств, установленных в предварительном подостром эксперименте.

Зарегистрирована дозоэффективная зависимость как по широте, так и по глубине эффекта. При этом максимальное количество статистически значимых отклонений выявлено при поступлении вещества в наибольшем уровне и составило 26, из них 7 имели бисигмальные отличия от аналогичных показателей в контрольной группе. Во второй опытной группе зафиксировано снижение токсического эффекта, о чём свидетельствуют 14 существенных сдвигов показателей, 3 из которых выходили за пределы двух сигм относительно контроля. В третьей опытной группе животных рассматриваемое соотношение составило 4/0, причём большинство достоверных отклонений показателей хотя и проявлялось только в первые три месяца опыта, однако имело однонаправленные резидуальные признаки общетоксического действия соединения, свойственного ему в более высоких дозах (включая и изменение по окончании шести месяцев воздействия численности лимфоцитов).

Исследования хронической токсичности несимметрично-го диметилгидразина выполнены в строгом соответствии с требованиями действующего нормативно-методического документа [27], что обеспечивает всестороннюю оценку состояния подопытных животных, а их необходимое количество в статистических группах — надёжность полученных результатов.

Заключение

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что уровни $3,8 \cdot 10^{-4}$ и $7,5 \cdot 10^{-5}$ мг/кг исследуемого химического вещества являются явно действующими. В то же время, принимая во внимание минимальное количество изменений (установленных только по широте эффекта) у животных при внутрижелудочном поступлении НДМГ в дозе $1,5 \cdot 10^{-5}$ мг/кг и основываясь на действующих диагностических критериях [27], последняя принята в качестве порога хронического общетоксического действия.

Выявленные особенности негативного влияния несимметрично-го диметилгидразина учтены при обосновании его ПДК в воде водоёмов.

Литература

(п.п. 1, 10, 11, 16, 20, 22 см. References)

2. Воробьев Е.В., Денисов О.Е., Кузнецов В.И. *Проектирование транспортных средств специального назначения*. М.: 2014.
3. Попова Л.С., Федоров Л.А., Вагнер С.Я. *Проблемы экологической опасности применения гептила – сверхтоксичного ракетного топлива. Хроника событий*. Пермь: 2008.
4. Киселев А.И., Медведев А.А., Меньшиков В.А. *Космонавтика на рубеже тысячелетий. Итоги и перспективы*. М.: Машиностроение; 2001.
5. Ракетное топливо «Гептил»: свойства, характеристики, опасность для человека, применение. Доступно: <https://fb.ru/article/437434/raketnoe-toplivo-heptil-svoystva-harakteristiki-opasnost-dlya-cheloveka-primenenie>
6. Ванина Е.А., Войцеховский В.В., Ванина П.Ю., Ярославцева А.В. Оценка риска химической аварии на космодроме «Восточный». *Амурский медицинский журнал*. 2017; (2): 58–61. <https://doi.org/10.22448/AMJ.2017.2.58-61>
7. Гладышев В.П., Ковалева С.В., Косьяненко О.А., Храмова Н.А., Кулагин Е.М. Ракетное топливо. Экологические проблемы применения несимметричного диметилгидразина и методы его определения в объектах окружающей среды. Доступно: <https://rips.narod.ru/geptil.htm>
8. Кречетов П.П., Королева Т.В., Чернишова О.В., Неронов В.В. Ракетно-космическая деятельность как источник воздействия на окружающую среду. *Проблемы региональной экологии*. 2008; (6): 96–100.
9. Ворожейкин А.П., Королева Т.В., Проскуряков Ю.В., Пузанов А.В. Поведение несимметричного диметилгидразина в ландшафтах районов падения остаточных частей ракет-носителей, стартующих с космодрома «Байконур». *Сибирский экологический журнал*. 2001; 8(2): 167–75.
10. Жубатов Ж., Кенесов Б.Н., Товасаров А.Д., Козловский В.А., Батырбекова С.Е. *Система экологического нормирования ракетно-космической деятельности космодрома Байконур*. Алматы: 2017.
11. Шатров Я.Т., Брусов В.И., Завильгельский Г.Б., Калинин Е.Н., Манухов И.В., Ягузинский Л.С. и др. *Новые аспекты исследования последствий использования гептила в ракетной технике*. М.: Пеликан; 2008.
12. Смоленков А.Д., Попутникова Т.О., Смирнов Р.С., Родин И.А., Шпигун О.А. Сравнительная оценка токсичности несимметричного диметилгидразина и продуктов его трансформации методами биотестирования. *Теоретическая и прикладная экология*. 2013; (2): 85–90.
13. Панин Л.Е., Перова А.Ю. Медико-социальные и экологические проблемы использования ракет на жидком топливе (гептил). *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2006; (1): 124–31.
14. РИА-Новости. Гептил: свойства, область применения и чем он опасен для человека. Доступно: <https://ria.ru/20130702/947039772.html>
15. Бугаев П.А., Антушевич А.Е., Рейнюк В.Л., Башарин В.А., Затекин В.В. Гидразин и его производные: токсикологическая характеристика. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; (4): 31.
16. Киселев М.Ф., Рембовский В.Р., Романов В.В., ред. *Пособие по токсикологии, гигиене, химии, индикации, клинике, диагностике острых и хронических интоксикаций и профилактике профессиональных заболеваний при работе с несимметричным диметилгидразином*. СПб.; 2009.
17. Томилин Н.В., Филько О.А., Гайкова О.Н., Храброва А.В., Соловьева Н.Е., Краснов К.А. и др. Экспериментальное исследование механизмов токсического действия несимметричного диметилгидразина при хроническом введении. *Токсикологический вестник*. 2020; (2): 54–61.
18. Томилин Н.В., Филько О.А., Храброва А.В., Соловьева Н.Е., Утсаль В.А., Краснов К.А. Генотоксическое и цитотоксическое действие несимметричного диметилгидразина при остром и субхроническом введении. *Современные вопросы биомедицины*. 2018; 2(4): 178–85.
19. Селиванова Л.Н., Захарова З.М., Ласточкина Е.М., Власова Л.А. *Вредные химические вещества в ракетно-космической отрасли. Справочник*. М.: 2011.
20. Википедия. Несимметричный диметилгидразин. Доступно: <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%94%D0%9C%D0%93>
21. Зрелов В.И., Серегин Е.П. *Жидкие ракетные топлива*. М.: Химия; 1975.
22. Методические указания МУ 2.1.5.720-98. Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. М.: 1999.
23. Ягузинский Л.С., Манухов И.В., Вагапова Э.Р., Кессених А.Г., Коноплева М.Н., Завильгельский Г.Б. и др. *Экспериментальные исследования влияния низких концентраций гептила и продуктов его гидролиза на воду и биологические объекты*. М.: 2015.
24. Колб В.Г., Камышников В.С. *Справочник по клинической биохимии*. Минск; 1982.
25. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. М.: Высшая школа; 1990.

References

1. Salgado M.C.V., Belderrain C.M.N., Devezas T.C. Space propulsion: a survey study about current and future technologies. *J. Aerosp. Technol. Manag.* 2018; 10. <https://doi.org/10.5028/jatm.v10.829>
2. Vorobev E.V., Denisov O.E., Kuznetsov V.I. *Design of Vehicles for Special Purposes [Proektirovaniye transportnykh sredstv spetsial'nogo naznacheniya]*. Moscow; 2014. (in Russian)
3. Popova L.S., Fedorov L.A., Vagner S.Ya. *Problems of the Environmental Hazard of Using Heptyl, a Super-Toxic Rocket Fuel. Events Chronicle [Problemy ekologicheskoy opasnosti primeneniya geptila – sverkhkhtokichnogo raketnogo topliva. Khronika sobytij]*. Perm'; 2008. (in Russian)
4. Kiselev A.I., Medvedev A.A., Menshikov V.A. *Cosmonautics at the Turn of the Millennium. Results and Prospects [Kosmonavtika na rubezhe tysyacheletiy. Itogi i perspektivy]*. Moscow: Mashinostroenie; 2001. (in Russian)
5. Rocket fuel «Heptyl»: properties, characteristics, danger to humans, application. Available at: <https://fb.ru/article/437434/raketnoe-toplivo-heptil-svoystva-harakteristiki-opasnost-dlya-cheloveka-primenenie> (in Russian)
6. Vanina E.A., Voytsekhovskiy V.V., Vanina P.Yu., Yaroslavtseva A.V. Evaluation of risk of chemical accident on the cosmodrome eastern. *Amurskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; (2): 58–61. <https://doi.org/10.22448/AMJ.2017.2.58-61> (in Russian)
7. Gladyshev V.P., Kovaleva S.V., Kosyanenko O.A., Khrantsova N.A., Kulagin E.M. Rocket fuel. Environmental problems of unsymmetrical dimethylhydrazine using and methods for its determination in environmental objects. Available at: <http://rips.narod.ru/geptil.htm> (in Russian)
8. Krechetov P.P., Koroleva T.V., Chernitsova O.V., Neronov V.V. Space-rocket activity as an influence source on environment. *Problemy regional'noy ekologii*. 2008; (6): 96–100. (in Russian)
9. Vorozheykin A.P., Koroleva T.V., Proskuryakov Yu.V., Puzanov A.V. Behavior of unsymmetrical dimethylhydrazine in the landscapes of the carrier rockets residual parts fall areas launched from the Baikonur cosmodrome. *Sibirskiy ekologicheskij zhurnal*. 2001; 8(2): 167–75. (in Russian)
10. Dallas J.A., Raval S., Alvarez Gaitan J.P., Saydam S., Dempster A.G. The environmental impact of emissions from space launches: A comprehensive review. *J. Clean. Prod.* 2020; 255: 120209–12. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120209>
11. Ulyanovskii N.V., Lakhmanov D.E., Pikovskoi I.I., Falev D.I., Popov M.S., Kozhevnikov A.Y., et al. Migration and transformation of 1,1-dimethylhydrazine in peat bog soil of rocket stage fall site in Russian North. *Sci. Total. Environ.* 2020; 726: 138483. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138483>
12. Zhubatov Zh., Kenesov B.N., Tovasarov A.D., Kozlovskiy V.A., Bатырбекова С.Е. *The System of Environmental Regulation of Rocket and Space Activities of the Baikonur Cosmodrome [Sistema ekologicheskogo normirovaniya raketno-kosmicheskoy deyatel'nosti kosmodroma Baykonur]*. Almaty; 2017. (in Russian)
13. Shatrov Ya.T., Brusov V.I., Zavilgelskiy G.B., Kalinichenko E.N., Manukhov I.V., Yaguzhinskiy L.S., et al. *New Aspects of the Study of Heptyl Using Consequences in Rocket Technology [Novye aspekty issledovaniya posledstviy ispol'zovaniya geptila v raketnoy tekhnike]*. Moscow: Pelican; 2008. (in Russian)
14. Smolenkov A.D., Poputnikova T.O., Smirnov R.S., Rodin I.A., Shpigun O.A. Comparative assessment of toxicity of unsymmetrical dimethyl hydrazine and its decomposition products by bioassay methods. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2013; (2): 85–90. (in Russian)
15. Panin L.E., Perova A.Yu. Medico-social and environmental problems of use of liquid-propellant rockets (heptyl). *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy Akademii meditsinskikh nauk*. 2006; (1): 124–31. (in Russian)
16. Carlsen L., Kenesova O.A., Bатырбекова С.Е. A preliminary assessment of the potential environmental and human health impact of unsymmetrical dimethylhydrazine as a result of space activities. *Chemosphere*. 2007; 67(6): 1108–16. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.11.046>
17. РИА-Новости. Heptyl: properties, scope and how it is dangerous to humans. Available at: <https://ria.ru/20130702/947039772.html> (in Russian)
18. Bugaev P.A., Antushevich A.E., Reynyuk V.L., Basharin V.A., Zatepin V.V. Hydrazine and its derivatives: toxicological characteristics. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; (4): 31. (in Russian)
19. Kiselev M.F., Rembovskiy V.R., Romanov V.V., eds. *Manual on Toxicology, Hygiene, Chemistry, Indication, Clinic, Diagnosis of Acute and Chronic Intoxications and Prevention of Occupational Diseases when Working with Unsymmetrical Dimethylhydrazine [Posobie po toksikologii, gigiene, khimii, indikatsii, klinike, diagnostike ostryykh i khronicheskikh intoksikatsiy i profilaktike professional'nykh zabolevaniy pri rabote s nesimmetrichnym dimetilgidrazinom]*. St. Petersburg; 2009. (in Russian)
20. Nguyen H.N., Chenoweth J.A., Beberta V.S., Albertson T.E., Nowadly C.D. The Toxicity, pathophysiology, and treatment of acute hydrazine propellant exposure: a systematic review. *Mil. Med.* 2021; 186(3–4): e319–e326. <https://doi.org/10.1093/milmed/usaa429>
21. Tomilin N.B., Filko O.A., Khrabrova A.V., Soloveva N.E., Krasnov K.A., et al. Experimental study of the mechanisms of toxic action of unsymmetrical dimethylhydrazine in chronic administration cological. *Toksikologicheskij vestnik*. 2020; (2): 54–61. (in Russian)
22. Abdullayeva B.A., Shalakhmetova T.M., Musanova G.A., Zharkova I.M., Askarbayeva K.A., Chunetova Zh.Zh., et al. The effect of rocket fuel on the morphological and morphometric characteristics of the lungs of rats. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 2020; 11(12): 709–15.
23. Tomilin N.V., Filko O.A., Khrabrova A.V., Soloveva N.E., Utsal V.A., Krasnov K.A. Genotoxicity and cytotoxicity of unsymmetrical dimethylhydrazine in acute and subchronic exposure. *Sovremennye voprosy biomeditsiny*. 2018; 2(4): 178–85. (in Russian)
24. Selivanova L.N., Zakharova Z.M., Lastochkina E.M., Vlasova L.A. *Harmful Chemicals in the Rocket and Space Industry. Reference Book [Vrednye khimicheskie veshchestva v raketno-kosmicheskoy otrasli. Spravochnik]*. Moscow; 2011. (in Russian)
25. Wikipedia. Unsymmetrical dimethylhydrazine. Available at: <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%94%D0%9C%D0%93> (in Russian)
26. Zrellov V.I., Seregin E.P. *Liquid Propellants [Zhidkie raketnye topliva]*. Moscow: Khimiya; 1975. (in Russian)
27. Methodical instructions MU 2.1.5.720-98. Substantiation of hygienic standards of chemicals in water of water bodies for household, drinking and cultural water use. Moscow; 1999. (in Russian)
28. Yaguzhinskiy L.S., Manukhov I.V., Vagapova E.R., Kessenikh A.G., Konopleva M.N., Zavilgelskiy G.B., et al. *Experimental Studies of the Effect of Heptyl Low Concentrations and Its Hydrolysis Products on Water and Biological Objects [Eksperimental'nye issledovaniya vliyaniya nizkikh kontsentratsiy geptila i produktov ego gidroliza na vodu i biologicheskie ob'ekty]*. Moscow; 2015. (in Russian)
29. Kolb V.G., Kamysnikov V.S. *Clinical Biochemistry Handbook [Spravochnik po klinicheskoy biokhimii]*. Minsk; 1982. (in Russian)
30. Lakin G.F. *Biometrics [Biometriya]*. Moscow: Vysshaya shkola; 1990. (in Russian)