

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



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

№ 1 (142), 2017

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

- Х.Х. Хамидулина, А.С. Филин, В.Э. Андрусов**
АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ОСНОВ
ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ ПРИ ПОДГОТОВКЕ
СПЕЦИАЛИСТОВ МЕДИКО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ..... 2
- О.С. Литвинова, М.В. Калиновская**
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПРИЧИН ОСТРЫХ
ОТРАВЛЕНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ В РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ..... 5
- К.К. Ильяшенко, А.Ю. Симонова, М.В. Белова**
СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ОСТРЫХ ЭКЗОТОКСИКОЗОВ
В ПОЖИЛОМ И СТАРЧЕСКОМ ВОЗРАСТЕ..... 10
- Т.П. Пинчук, К.К. Ильяшенко, С.Г. Мурадян, Т.В. Клокова**
ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ
ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ..... 15
- Н.В. Зайцева, Т.С. Уланова, А.В. Злобина, М.В. Волкова,
М.И. Гилева**
ИССЛЕДОВАНИЯ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ В СОСТАВЕ
ПРОМЫШЛЕННЫХ АЭРОЗОЛЕЙ И ВЗВЕШЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В
ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ..... 20
- Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, В.Н. Звездин, А.А. Довбыш**
ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛСОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦ
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ЭКСПОЗИЦИИ: БИОАККУМУЛЯЦИЯ
И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ
ВОЗДЕЙСТВИЯ..... 27
- Ф.И. Ингель, Е.К. Кривцова, Н.А. Юрцева, О.Н. Савостикова,
А.В. Алексеева**
ЦИТОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА,
ИНДУЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА РАЗНЫХ
РАЗМЕРОВ НА КУЛЬТУРЕ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА..... 35
- Д.В. Герасимов**
АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ
НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ГРЫЗУНОВ ПРИ ОДНОКРАТНОМ
ПОСТУПЛЕНИИ СМЕШАННОГО ОКСИДА ОБЕДНЕННОГО УРАНА
С ВОДОЙ..... 42
- Д.С. Прокофьева, В.И. Шмурак, Е.А. Бодрякова, Н.Г. Войтенко**
ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ЭСТЕРАЗНОГО
ПРОФИЛЯ КРОВИ МЫШЕЙ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ
2-(О-КРЕЗИЛ)-4Н-1,3,2-БЕНЗОДИОКСОФОСФОРИН-2-
ОКСИДОМ..... 47
- **Экологическая токсикология**
**Н.И. Колесникова, А.О. Морозова, Д.В. Ускалова,
Е.И. Сарapultseva**
ИЗМЕНЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА,
ВЫЖИВАЕМОСТИ И МЕТАБОЛИЗМА В ДВУХ ПОКОЛЕНИЯХ
Daphnia magna В СРЕДЕ С ПИПЕРОНИЛ БУТОКСИДОМ..... 52
- **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 *BACILLUS KOMAGATAELLA (PICHIA) PASTORIS* ВКПМ
У-4225..... 58
- **Некролог**
ПАМЯТИ ЮРИЯ ИЛЬИЧА КУНДИЕВА..... 60
- Kh.Kh Khamidulina, A.S Filin, V.E Andrusov**
ACTUAL ISSUES OF TEACHING BASIC PRICIPLES OF PREVENTIVE
TOXICOLOGY TO SPECIALISTS OF MEDICAL AND PROPHYLASTIC
PROFILE..... 2
- O.S. Litvinova, M.V. Kalinovskaya**
TOXICOLOGICAL MONITORING OF CAUSES OF ACUTE
POISONINGS OF CHEMICAL ETIOLOGY IN THE RUSSIAN
FEDERATION..... 5
- K.K. Ilyashenko, A.Yu. Simonova, M.V. Belova**
A STRUCTURAL ANALYSIS OF ACUTE EXOTOXICOSES
IN PEOPLE OF ELDERLY AND SENILE AGE..... 10
- T.P. Pinchuk, K.K. Ilyashenko, S.G. Muradyan, T.V. Klokova**
ENDOSCOPIC DIAGNOSTICS AND THERAPY OF CHEMICAL BURNS
IN RESPIRATORY TRACTS..... 15
- N.V. Zaitseva, T.S. Ulanova, A.V. Zlobina, M.V. Volkova,
M.I. Gileva**
INVESTIGATIONS INTO NANOSCALE PARTICLES AS PART OF
INDUSTRIAL AEROSOLS AND PARTICULATE MATTER IN THE AIR
OF WORKING AREA..... 20
- Zaitseva N.V., Zemlianova M.A., Zvezdin N.N.,
Dovbysh A.A.**
TOXICOLOGICAL AND HYGIENE CHARACTERIZATION
OF SOME METAL-CONTAINING NANOPARTICLES AT
VARIOUS EXPOSITION METHODS: BIOACCUMULATION AND
MORPHOFUNCTIONAL EXPOSURE FEATURES..... 27
- F.I. Ingel, E.K. Krivtsova, N.A. Yurtseva, O.N. Savostikiva, A.V.
Alekseeva**
CYTOME ANALYSIS OF EFFECTS OF GENOMIC INSTABILITY
INDUCED BY DIFFERENTLY SIZED SILVER NANOPARTICLES IN
HUMAN WHOLE BLOOD CULTURE..... 35
- D.V. Gerasimov**
ANALYSIS OF FUNCTIONAL CHANGES IN THE RODENTS
CENTRAL NERVOUS SYSTEM AT A SINGLE UPTAKE
OF DEPLETED URANIUM OXIDE MIXED
WITH WATER..... 42
- D.S. Prokofieva, V.I. Shmurak, E.A. Bodryakova, N.G. Voitenko**
GENDER SPECIFIC CHANGES IN MOUSE BLOOD
ESTRERASE PROFILE AT THE ACUTE INTOXICATION
BY 2-(O-CRESYL)-4H-1,3,2-BENZODIOXAPHOSPHORIN-2-
OXIDE..... 47
- **Ecotoxicology**
**N.I. Kolesnikova, A.O. Morozova, D.V. Uskalova,
E.I. Sarapultseva**
CHANGES IN REPRODUCTIVE POTENTIAL, SURVIVAL AND
METABOLIC ACTIVITY IN TWO SUCCESSIVE GENERATIONS OF
DAPHNIA MAGN IN THE PIPERONYL BUTOXIDE MEDIUM..... 52
- **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 *BACILLUS KOMAGATAELLA (PICHIA) PASTORIS*
ВКПМ У-4225..... 58
- **Некролог**
ПАМЯТИ ЮРИЯ ИЛЬИЧА КУНДИЕВА..... 60

УДК 378.6 : 615.9

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ОСНОВ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ ПРИ ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ МЕДИКО- ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Х.Х. Хамидулина^{1,2}, А.С. Филин³, В.Э. Андрусов⁴

¹ Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения "Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ" Роспотребнадзора, 117105, г. Москва, Российская Федерация;

² Федеральное Государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последиplomного образования», 123993, г. Москва, Российская Федерация;

³ Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, 119991, г. Москва, Российская Федерация;

⁴ Государственное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы, 115088 г. Москва, Российская Федерация

Решение возникающих вопросов в области химической безопасности требует наличие в стране квалифицированных специалистов. В настоящее время в номенклатуру медицинских специальностей включена специальность «токсикология», и она касается лишь клинических токсикологов. Врачи медико-профилактического профиля, которые собственно и занимаются оценкой токсичности и опасности химических веществ, вопросами профилактики и оценки риска их воздействия на здоровье человека и среду его обитания, в соответствии с существующей нормативно-правовой базой не являются токсикологами. В статье поднимаются также вопросы необходимости преподавания профилактической токсикологии на различных этапах непрерывного медицинского образования.

Ключевые слова: токсикология, образование.

В последние десятилетия международное сообщество уделяет огромное внимание проблемам химической безопасности. Это вызвано тем, что в современных условиях человек соприкасается с большим числом химических соединений в быту и на производстве. По данным Химической реферативной службы (Chemical Abstracts Service) Американского химического общества синтезировано более 116 миллионов химических веществ. Годовой объем производства химических веществ во всем мире увеличился в два раза с 2000 по 2009 год [1]. В производственной и окружающей среде население контактирует примерно с 70 000 веществами, токсичность и риск воздействия которых не изучены должным образом. По данным Всемирной организации здравоохранения 25% заболеваний обусловлено влиянием химического фактора. Постоянно возникают новые угрозы, такие как эндокринные разрушители, наноразмерные вещества и т.д.

В этой связи международное сообщество активно консолидирует свои усилия по решению актуальных проблем по безопасному регулированию химических веществ. Российская Федерация является участником многих международных соглашений, касающихся регулирования обращения химических веществ. Это Роттердамская конвенция о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле, Стокгольмская конвенция о стойких органических загрязнителях, Базельская конвенция о контроле за трансграничной перевозкой опасных отходов и их удалением.

Необходимость разработки и реализации на национальном уровне комплекса мер, направленных на последовательное снижение негативного воздействия ксенобиотиков на население и окружающую среду до приемлемого уровня риска, является краеугольным камнем Основ государственной политики в области обеспечения химической и биологиче-

Хамидулина Халида Хизбулаевна (Khamidulina Khalida Khizbulaevna), доктор медицинских наук; директор ФБУЗ "Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ" Роспотребнадзора; профессор, заведующий кафедрой гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 117105, г. Москва, director@pohv.ru

Филин Андрей Сергеевич (Filin Andrey Sergeevich), кандидат медицинских наук, доцент кафедры экологии человека и гигиены окружающей среды Первого МГМУ имени И.М. Сеченова, 119991, г. Москва, andrey.filin@mail.ru

Андрусов Вадим Эдуардович (Andrusov Vadim Eduardovich), главный эксперт ГБУ НИИЗМ ДЗМ, 115088 г. Москва, vadim_andrusov@mail.ru

ской безопасности Российской Федерации на период до 2025 года и дальнейшую перспективу (далее – Основы), утвержденных Президентом Российской Федерации 01.11.2013 г. Основами предусмотрено, что химическая безопасность Российской Федерации определяется состоянием готовности государства к предотвращению угроз химического характера, в том числе путем создания на территории Российской Федерации условий для защиты населения и окружающей среды от негативного воздействия опасных химических факторов.

Реализация государственной политики по обеспечению химической безопасности достигается путем функционирования единой государственной системы обеспечения химической безопасности Российской Федерации, предусматривающей категорирование, прогнозирование, предупреждение и парирование угроз химической природы, ликвидацию последствий чрезвычайных ситуаций в результате воздействия опасных химических факторов окружающей среды. Учитывая широкий круг вопросов теоретической и практической токсикологии, связанных с охраной окружающей среды, сохранения генофонда населения России, а также исходя из основных принципов государственной политики относительно приоритетного сохранения здоровья человека и охраны окружающей среды, токсикология как наука на современном этапе занимает ключевые позиции в области биологии и медицины и требует подготовки грамотных специалистов [2].

В соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 7 октября 2015 г. № 700н «О номенклатуре специальностей специалистов, имеющих высшее медицинское и фармацевтическое образование» имеется специальность «токсикология». Однако, принимая во внимание другие приказы этого ведомства (Минздравсоцразвития РФ от 07.07.2009 № 415н «Об утверждении квалификационных требований к специалистам с высшим и послевузовским медицинским и фармацевтическим образованием в сфере здравоохранения») уровень профессионального образования по специальности «токсикология» должен соответствовать высшему профессиональному образованию по одной из специальностей: «06001001 Лечебное дело», «06001003 Педиатрия»; послевузовское профессиональное образование или дополнительное образование – ординатура по специальности «Токсикология» или профессиональная переподготовка по специальности «Токсикология» при наличии послевузовского профессионального образования по специальности «Анестезиология-реаниматология»; должности врач-токсиколог; руководитель структурного подразделения – врач-токсиколог.

Таким образом, врачи медико-профилактического профиля, которые собственно и занимаются оценкой токсичности и опасности химических веществ, вопросами профилактики и оценки риска их

воздействия на здоровье человека и среду его обитания, не являются токсикологами. Кроме того, согласно Профессиональному стандарту «Специалист в области медико-профилактического дела» (утв. приказом Министерства труда и социальной защиты РФ от 25 июня 2015 г. № 399н), деятельность в области химической безопасности распределена в основном между такими специальностями, как врач по общей гигиене, коммунальной гигиене, гигиене труда, по санитарно-гигиеническим лабораторным исследованиям. В настоящее время подготовка этих специалистов осуществляется на основе Федерального государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования по специальности «Медико-профилактическое дело» и направлена на формирование компетентного подхода в решении профессиональных задач по проведению токсикологических оценок объектов хозяйственной и иной деятельности в целях установления и предотвращения вредного воздействия факторов среды обитания на человека, на основе современных теоретических представлений. На этом этапе обучения студенты должны знать научные основы гигиенического нормирования вредных факторов, однако формирование навыков и овладение конкретными методиками токсикологических исследований не предусматривается.

Студенты получают общую теоретическую информацию об основных параметрах токсикометрии при острых, подострых и хронических экспериментальных исследованиях, способах затравки экспериментальных животных, методах оценки функционального состояния организма экспериментальных животных, методике обоснования и расчета ОБУВ и ПДК. Они изучают классификацию вредных веществ по степени токсичности и опасности (по параметрам токсикометрии), санитарно-гигиенические требования к средствам коллективной и индивидуальной защиты в зависимости от класса опасности вредных веществ; основные нормативно – правовые акты, устанавливающие пределы содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны, в воздухе населенных мест, воде водных объектов, почве, пище; методику оценки содержания в воздухе комплекса вредных веществ, обладающих независимым или односторонним (аддитивным и потенцированным) действием; критерии оценки условий труда по химическому фактору и прогнозирования риска развития профессиональных заболеваний. Студенты получают представления об основных этапах работы специалиста Роспотребнадзора по контролю за содержанием вредных веществ в среде обитания человека. Кроме того, рассматривают проблемы диагностики и профилактики профессиональных заболеваний, обусловленных воздействием химических факторов на производстве.

Начиная с этого учебного года студентам 6-го курса медико-профилактического факультета Москов-

ского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова начали преподавать курс «Профилактическая токсикология» как один из разделов дисциплины по выбору. В рамках этого курса запланировано несколько занятий в токсикологических лабораториях Роспотребнадзора и на базе ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора.

Однако существуют некоторые недостатки в существующей системе медицинского образования и обучения, которые препятствуют подготовке специалистов, соответствующих современным требованиям.

Количество часов, отводимых на изучение базовых медицинских дисциплин, является недостаточным. Студенты 5-го курса часто имеют слабые знания по физиологии, гистологии, биохимии, химии и физике.

Для получения более полного представления о токсикологических экспериментах, об основных понятиях токсикометрии, их значении, необходимо проводить занятия в испытательных центрах и лабораториях, предназначенных для этого. Решение одних только ситуационных задач не может дать представление о профилактической токсикологии в целом и особенно о современных альтернативных методах исследований и экспериментах с использованием животных.

Целесообразным является разработка для всех дисциплин программы по изучению профилактической токсикологии, для формирования у выпускников целостного представления о безопасном регулировании химических веществ.

На этапе последипломного образования необходимо глубокое изучение теоретических основ токсикологии и совершенствование практических навыков. Вопросы профилактической токсикологии сегодня затрагиваются лишь в отдельных образовательных учреждениях страны, так, например, на сертификационных циклах ФГБУ ДПО РМАНПО по специальностям общая гигиена, санитарно-гигиенические лабораторные исследования, а также на специализированном недельном цикле повышения квалификации «Токсикологические методы исследования».

Принимая во внимание актуальность проблем химической безопасности, сегодня экспертным сообществом по заданию Минздрава России подготовлен проект Федерального закона «О химической безопасности, в котором в статье «Национальная система химической безопасности» отражена необходимость укрепления кадрового потенциала и совершенствования системы подготовки специалистов в этой области. Возможно, это послужит основанием для внесения изменений в номенклатуру медицинских специальностей и подготовку специалистов в области профилактической токсикологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сводный отчет для руководителей. Обзор химических веществ и их безопасного использования. (Global Chemicals Outlook): GPS Publishing, ЮНЕП, 2012. <http://www.unep.org/chemicalsandwaste/Portals/9/Mainstreaming/GCO/Rapport%20Synthese%20Russe.pdf>.

Synthese%20Russe.pdf.

2. Курляндский Б.А. Профилактическая токсикология: проблемы, задачи, перспективы. // Журнал «Токсикологический вестник». 2010. - №3(102), С. 11-13.

REFERENCES:

1. UNEP. Global Chemicals Outlook. Towards Sound Management of Chemicals. GPS Publishing, 2012. <http://www.unep.org/chemicalsandwaste/Portals/98Mainstreaming/GCO/Rapport%20Synthese%20Russe.pdf>.

2. Kurylandskiy B.A. Preventive toxicology: issues, objectives, perspectives. *Toksikologicheskii Vestnik (Toxicological Review)* 2010, 3 (102), 10-11. (in Russian)

Kh.Kh Khamidulina^{1,2}, A.S Filin³, V.E Andrusov⁴

ACTUAL ISSUES OF TEACHING BASIC PRICIPLES OF PREVENTIVE TOXICOLOGY TO SPECIALISTS OF MEDICAL AND PROPHYLASTIC PROFILE

¹ Russian Register of Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances of Rosпотребнадзор, 117105 Moscow, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 123993 Moscow, Russian Federation

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991 Moscow, Russian Federation

⁴ Scientific-Research Institute of Public Health and Health Management Organizational Structure, Healthcare Department of Moscow, 115088 Moscow, Russian Federation

Addressing emerging chemical safety issues requires the presence of qualified professionals in the country. Currently, a speciality “toxicology” is included in the range of medical disciplines but it only applies to clinical toxicologists. Physicians of preventive health profile, who are actually involved in toxicity and hazards assessment of chemicals, prevention and risk assessment of their impact on human health and human environment are not thought of as toxicologists in accordance with the existing legal and regulatory framework. The article also raises questions about the necessity of teaching preventive toxicology at the various stages of continuous medical education.

Keywords: toxicology, education.

Материал поступил в редакцию 10.12.2016 года.

УДК 615.9 – 615.099

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПРИЧИН ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

О.С. Литвинова^{1,2}, М.В. Калиновская^{1,3}

¹ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, 117105, г. Москва, Российская Федерация;

²ФГБУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, 125993, г. Москва, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация

В статье изложены результаты оценки данных токсикологического мониторинга, проведенного ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, за период 2011-2015 гг. За анализируемый период в Российской Федерации зарегистрировано 838 169 случаев острых отравлений химической этиологии, от 111,5 до 120,8 случаев на 100 тыс. населения, 17,2% из них - с летальным исходом. Имеет место тренд к росту острых отравлений химической этиологии среди подростков. Основными причинами острых химических отравлений послужила спиртосодержащая продукция (32,1%).

Ключевые слова: острые отравления химической этиологии, спиртосодержащая продукция, алкоголь и его суррогаты, токсикологический мониторинг.

Введение. Острые отравления химической этиологии составляют порядка 20% болезней, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды. Они составляют вторую после сердечно - сосудистых заболеваний причину смертности населения большинства стран [1]. Среди случайных химических отравлений с летальным исходом лидирующее место занимают отравления алкоголем и его суррогатами, лекарственными и наркотическими средствами.

Отравления этанолом и его суррогатами регистрируются как на территории Российской Федерации, так и в зарубежных странах. За 2011–2012 гг. жертвами массовых алкогольных отравлений с летальным исходом в Чехии стали 27 человек, в Словакии - 17 человек, в Эквадоре – 21 человек. В США от отравления алкоголем ежегодно умирает более 2200 человек [2].

В докладах Всемирной организации здравоохранения [3,4], основанных на статистических данных и результатах многочисленных исследований, отмечаются высокие уровни употребления алкоголя как одного из ведущих фак-

торов риска преждевременной смертности.

В Российской Федерации до 60% от всех больных с острыми отравлениями, поступающих в токсикологические стационары страны, составляют пациенты с интоксикациями этанолсодержащими жидкостями и суррогатами алкоголя. При этом наблюдается омоложение пациентов с такими отравлениями, увеличение количества женщин с острой алкогольной интоксикацией, частота групповых отравлений и их массовость; высокая летальность, в том числе больничная, при таких отравлениях. Это приводит к значительному ущербу народному хозяйству, здоровью настоящего и будущего поколений. Совершенно очевидно, таким образом, что отравления спиртосодержащей продукцией являются не только медицинской, социальной, но и экономической проблемой [5].

Для оценки потерь здоровья населения международными организациями используется такой показатель как потерянные годы потенциальной жизни (ППЖ). В Государственном научно-исследовательском центре профилактической медицины изучен вклад

Литвинова Ольга Сергеевна (Litvinova Olga Sergeevna) – заведующий отделением гигиены питания ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, доцент кафедры гигиены ФГБУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, г. Москва, pitan@fcgje.ru

Калиновская Марина Витальевна (Kalinovskaya Marina Vitalievna) – заведующий отделом социально-гигиенического мониторинга и оценки риска питания ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, доцент кафедры социальной гигиены и организации госсанэпидслужбы по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения, ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, gseu@fcgje.ru.

в экономические потери и структуру ПГПЖ причин смерти, обусловленных 3-мя причинами (алкоголем и наркотиками; внешними причинами; заболеваниями). Установлено, что минимальный ПГПЖ составил 7586, а максимальный - 30761. Экономические потери в результате ПГПЖ насчитывают 14,3 % ВВП страны и 7,6% - 30,0% ВРП - в субъектах Российской Федерации [6].

Итак, признано, что ведущее место среди причин острых отравлений химической этиологии занимают отравления спиртосодержащими средствами, а контингент пострадавших при таких отравлениях – трудоспособное население с увеличением числа пострадавших среди подростков и женщин. В этой связи представляется *актуальным исследование* данного вопроса в контексте проводимого в Российской Федерации токсикологического мониторинга [7].

Материалы и методы исследования. Токсикологический мониторинг, как инструмент изучения динамики и структуры острых отравлений, является неотъемлемой частью социально-гигиенического мониторинга. Для оценки масштабов и структуры острых отравлений химической этиологии, в том числе спиртосодержащими жидкостями, нами использованы данные токсикологического мониторинга, проводимого ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, в соответствии с приказом Роспотребнадзора от 31.10.2012 №1056 «Об утверждении форм отраслевого статистического наблюдения», за период 2011-2015 гг. Проводился анализ показателей острых отравлений химической этиологии по структуре, причинам, возрастным категориям населения.



Рис. 1. Структура ООХЭ в Российской Федерации по причинам отравлений

Результаты и обсуждение. За период 2011-2015 гг. в Российской Федерации зарегистрировано 838 169 случаев острых отравлений химической этиологии (ООХЭ), от 111,5 до 120,8 случаев на 100 тыс. населения. Из них 144 333 случая (17,2%) - с летальным исходом (от 19,3 до 21,0 случаев на 100 тыс. населения).

Основными причинами таких отравлений послужили: спиртосодержащая продукция (32,1%), лекарственные препараты (30,5%), другие средства: органические растворители, галогенпроизводные алифатических и ароматических углеводородов, разъедающие вещества, в т. ч. уксусная кислота, уксусная эссенция, металлы, окись углерода, пестициды и др. (22,2%), наркотические вещества (13,7%), продукты питания (1,5%) (рис. 1).

Ведущее место в структуре ООХЭ принадлежит острым отравлениям спиртосодержащей продукцией, удельный вес которых в течение анализируемого периода составлял от 29,3 до 36,2 процентов в общей структуре причин острых отравлений химической этиологии.

Следует отметить, что и в структуре острых отравлений химической этиологии с летальным исходом (ООХЭЛИ) удельный вес острых отравлений спиртосодержащей продукцией. с 2011 по 2015 годы составил от 48,0 до 52,5 процентов (рис.2).

В период 2011-2015 гг. в 20 субъектах Российской Федерации имели место превышения уровней острых отравлений спиртосодержащей по сравнению с показателями в целом по России, территории риска представлены на рисунке 3.

В этот же период в 36 субъектах Российской Федерации отмечались показатели отравлений спиртосодержащей продукцией с леталь-



Рис. 2. Структура ООХЭЛИ в Российской Федерации по причинам отравлений



Рис. 3. Территории «риска» по острым отравлениям спиртосодержащей продукцией среди всего населения, 2011-2015 гг.



Рис. 4. Территории «риска» по острым отравлениям спиртосодержащей продукцией с летальными исходами среди всего населения, 2011 - 2015 гг.

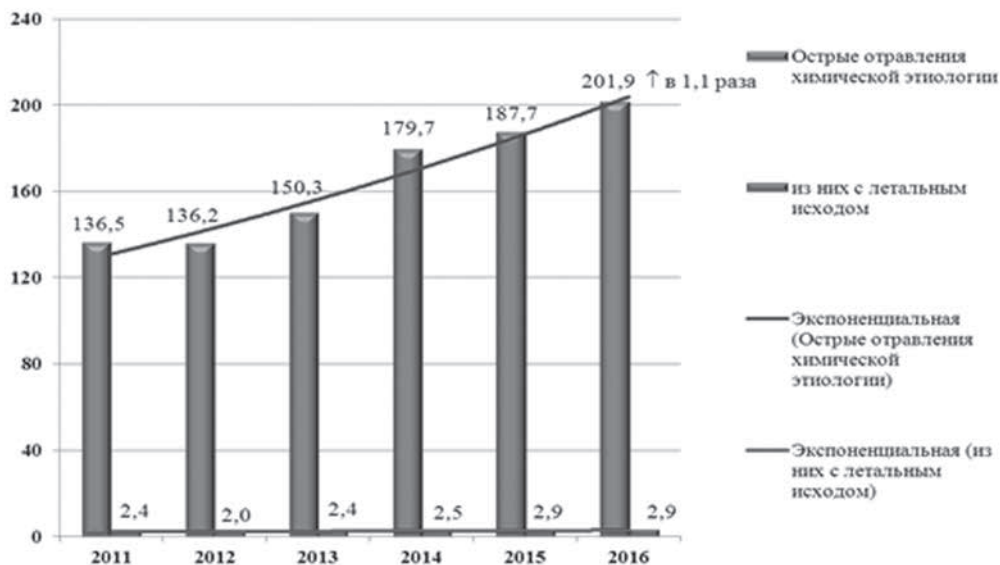


Рис. 5. Динамика острых отравлений химической этиологии среди подросткового населения Российской Федерации (на 100 тыс. населения).

ным исходом, превышающие средние по России (рис. 4).

Показатель ООХЭ среди подросткового населения, что вызывает особую озабоченность, возрастает из года в год, и в 2015 г. составил 187,7 случаев на 100 тыс. населения (в 2014 г. – 179,7 на 100 тыс. населения; в 2013 г. - 150,3 на 100 тыс. населения; в 2012 г. - 136,2 на 100 тыс. населения; в 2011 г. - 136,5 на 100 тыс. населения). Статистический анализ позволяет прогнозировать в 2016 году рост ООХЭ среди подросткового населения Российской Федерации в 1,1 раза (рис.5).

Как видно из представленного рисунка, показатель ООХЭЛИ среди подростков в 2015 г. также несколько вырос и составил 2,9 случаев на 100 тыс. населения (2014 г. - 2,5 случая на 100 тыс. населения; 2013 г. - 2,4 случая на 100 тыс. населения; в 2012 – 2,0 случая на 100 тыс. населения; в 2011 – 2,4 случая на 100 тыс. населения). В 2016 году этот показатель прогнозируется на уровне 2015 года.

Одновременно с этим возросло и количество отравлений от спиртосодержащей продукции среди подростков 15-17 лет в 2015 г. и составило 1805 случаев (44,27 на 100 тыс. населения). В 2011 г. эти показатели составляли 1710 случаев (35,58 на 100 тыс. населения), в 2013 г.- 1337 случаев (30,82 на 100 тыс. населения), в 2014 г. – 1412 случаев (33,57 на 100 тыс. населения).

В целях профилактики негативных явлений среди подростков и молодежи, ориентации населения на ведение здорового образа жизни только в последние годы приняты государственные программы: Оренбургской области - «Развитие физической культуры, спорта и

туризма на 2014-2020 годы»; Иркутской области - «Молодежная политика» с подпрограммой «Комплексные меры профилактики злоупотребления наркотическими средствами, токсическими и психотропными веществами на 2014-2018 годы». Утверждён «Комплексный план мероприятий по формированию здорового образа жизни населения Свердловской области на 2014-2018 годы». В Республике Башкортостан приняты Законы «О профилактике алкоголизма, наркомании и токсикомании в Республике Башкортостан»; «О регулировании деятельности в области производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции в Республике Башкортостан» [8]. Утверждены и действуют государственные программы Ленинградской области, направленные на профилактику алкоголизма, наркомании, токсикомании и формирование здорового образа жизни: «Развитие здравоохранения в Ленинградской области» подпрограмма «Профилактика заболеваний и формирование здорового образа жизни». Утверждены планы мероприятий муниципальных образований по профилактике и снижению острых отравлений химической этиологии среди населения [9]. Данные проводимого Роспотребнадзором токсикологического мониторинга и рекомендации по здоровому образу жизни размещаются на соответствующих сайтах управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации.

Выводы.

1. За период 2011 – 2015 гг. ведущее место в структуре острых отравлений химической

этиологии принадлежит острым отравлениям от спиртосодержащей продукции (от 29,3 до 36,2%).

2. На протяжении анализируемого периода регистрировались превышения уровней острых отравлений спиртосодержащей продукцией средних по России показателей в 20 субъектах Российской Федерации, отравлений с летальным исходом – в 36 субъектах Российской Федерации.

3. В 2015 г. имел место рост числа случаев

отравлений от спиртосодержащей продукции среди подростков 15-17 лет.

4. В субъектах Российской Федерации действует целый ряд комплексных программ, направленных на снижение масштабов алкоголизма и отравлений спиртосодержащими жидкостями, мотивацию здорового образа жизни, однако, проблема потребления алкоголя остается актуальной и требует усилий медицинского сообщества, социальных и экономических решений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Общая токсикология /Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. - М.: Медицина, 2002. -608с.
2. Халютин Д.А. Экспериментальная оценка эффективности применения пептидных препаратов при отравлении этиловым спиртом //автореферат дисс. к.м.н., 2015.
3. Доклад о состоянии здравоохранения в Европе 2015. [Электронный ресурс], http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0008/291518/EHR_High_RU_WEB_01.pdf?ua=1

4. Доклад о состоянии здравоохранения в Европе. 2012. [Электронный ресурс], http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0020/234911/The-European-health-report-2012-Charting-the-way-to-well-being-Rus.pdf?ua=1
5. Бонитенко Е.Ю. Токсичность и особенности метаболизма этанола, «суррогатов» алкоголя и спиртов, способных вызывать массовые отравления: обоснование направлений фармакологической профилактики и терапии интоксикаций (клинико-эксперимен-

тальное исследование)// автореферат дисс. д.м.н., 2006.
6. Бойцов С.А. и др. Потери от преждевременной смерти в экономически активном возрасте// С.А. Бойцов, И.В. Самородская, В.В. Третьяков, М.А. Ватолина. Вестник Российской Академии наук, т.85, №12. 2015.С. 1086-1091.
7. Форма отраслевого статистического наблюдения 12-12 «Сведения о результатах токсикологического мониторинга» за 2011-2015 гг.
8. О состоянии санитарно-эпидемио-

логического благополучия населения в Российской Федерации в 2014 году: Государственный доклад.— М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2015.—206 с.
9. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 году: Государственный доклад.— М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2016.—200 с.

REFERENCES:

1. General Toxicology. Under editorship of B.A. Kurlyandskiy and V.A. Filov. M. Meditsina, 2002 608 p. (in Russian)
2. D.A. Khalyutin. Experimental assessment of application effectiveness of peptide preparations in case of poisonings with ethyl alcohol (author's abstract of PhD dissertation), 2015. (in Russian)
3. WHO/Europe. The European Health report 2015.(Electronic version) http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0008/291518/EHR_High_RU_WEB_01.pdf?ua

4. WHO/Europe. The European Health report 2015.(Electronic version) http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0029/234911/The-European-health-report-2012-Charting-the-way-to-well-being-Rus.pdf?ua=1
5. Bonitenko Ye.Yu. . Toxicity and metabolism peculiarities of ethanol, fake alcohol and spirits able to cause mass poisonings; validation of trends in pharmacological prevention and intoxication therapy (clinical and experimental investigations)// author's

abstract of Doctoral dissertaion.2006.(in Russian)
6. Boytsov S.A. and et al. Losses of premature death in economically active population age // S.A. Boytsov, I.V.Samorodskaya, V.V. Tretyakov, M.A.Vatolin. Review (Vestnik)of the Russian Academy of Sciences. V.85, No 12, 2015,1086-1091 (in Russian).
7. Industry-specific form of statistical observation 12-12 " Information about results of toxicological monitoring" for 2011-2015.(in Russian)

8. Status of sanitary and epidemiological well-being of the Russian Federation population in 2014. State report. M. Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being. 2015. 206p. (in Russian)
9. Status of sanitary and epidemiological well-being of the Russian Federation population in 2015. State report. M. Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being. 2016. 200 p. (in Russian)

O.S. Litvinova^{1,2}, M.V. Kalinovskaya^{1,3}

TOXICOLOGICAL MONITORING OF CAUSES OF ACUTE POISONINGS OF CHEMICAL ETIOLOGY IN THE RUSSIAN FEDERATION

¹ Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, 117105 Moscow, Russian Federation

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education", Ministry of Health of the Russian Federation, 125993 Moscow, Russian Federation

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991 Moscow, Russian Federation

The article presents evaluation results of data of toxicological monitoring conducted by the Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor over the period of 2011-2015. In the Russian Federation during the analyzed period, 838,169 cases of acute poisonings of chemical etiology were registered, that is to say 111.5 to 120.8 cases per 100 thousand population, 17.2% of them were lethal. There is a trend of increase in acute poisonings of chemical etiology among adolescents. The main causes of acute chemical poisoning were alcohol-containing products (32.1%).

Keywords: acute poisonings of chemical etiology, alcohol and its fake products, toxicological monitoring

Материал поступил в редакцию 16 января 2017 г.

УДК 615.9-615.099

СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ОСТРЫХ ЭКЗОТОКСИКОЗОВ В ПОЖИЛОМ И СТАРЧЕСКОМ ВОЗРАСТЕ

К.К. Ильяшенко, А.Ю. Симонова,
М.В. Белова

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», 129090, г. Москва, Российская Федерация

На основании анализа отчетов отделения лечения острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского за период с 2009 по 2014 годы и «Медицинских карт стационарного больного» пациентов, проходивших лечение в указанные сроки, изучена структура острых отравлений у больных пожилого и старческого возраста. Доля пациентов старших возрастных групп составляет в среднем 12,5% от всех больных. Наиболее частой причиной отравления является суицидальная попытка – 71,9%. Ведущее место занимают отравления лекарственными средствами: психофармакологическими – 46,5% и кардиотропными – 13,6%, а также комбинированные отравления. Анализ летальности выявил ее рост с увеличением возраста пострадавших. Одной из основных причин летальных исходов является пневмония.

Ключевые слова: острые отравления, пациенты пожилого и старческого возраста, летальность.

Введение. Данные ООН указывают на то, что мир претерпевает демографическую трансформацию: сегодня каждый десятый – это человек в возрасте 60 лет и старше, всего 629 миллионов. По прогнозам к 2050 году уже каждый пятый человек будет в этом возрасте, а общее число таких лиц превысит 1 миллиард.

Старение – это постепенный процесс повреждения и гибели клеток у многоклеточных организмов, приводящий к нарушению функций организма и его гибели. Старость – это не процесс, а состояние организма, подвергнувшегося старению, или, выражаясь кратко, старость – это результат старения [1].

Переход в пожилой возраст существенно изменяет взаимоотношения человека с обществом. К сожалению, в современном российском обществе отношение младших к старшим зачастую формируется в направлении отвергающем, осуждающем, порицающем, нередко насмешливым. Дестабилизация социальной ситуации, направленность сознания большинства людей на выживание влияют на восприятие пожилых как надоедливых, больных, бедных, одиноких, не имеющих социальной значимости, не способных

воспринимать новое потребителей, незаслуженно претендующих на ограниченные социальные блага. Самая главная проблема пожилых людей и общества, в котором они живут, – это прогрессирующее ухудшение состояния здоровья и возрастающие с этим объемы затрат на обеспечение лечебно-диагностического процесса [1]. Среди больных, получающих медицинскую помощь по поводу острого отравления химической этиологии пациенты пожилого и старческого возраста составляют значительную часть в различных регионах Российской Федерации, и в последние годы рядом авторов отмечено их увеличение [2 – 4]. Ю.Н. Остапенко и соавторы (2013) на основании изучения частоты случаев химических отравлений по данным формы № 14, дающей представление о количестве госпитализированных пациентов, отметил, что в 2011 г. удельный вес госпитализированных пациентов в возрасте старше 60 лет составил от 6,8% в Северокавказском федеральном округе до 23,8% в Центральном федеральном округе (в среднем 12,8%). При этом авторы отмечают, что отсутствует учет по нозологическим формам отравлений за исключением токсического действия алкоголя [5].

Ильяшенко Капиталина Константиновна (Ilyashenko Kapitalina Konstantinovna), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», 129090, г. Москва, toxikapa@mail.ru

Симонова Анастасия Юрьевна (Simonova Anastasiya Yur'evna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», 129090, г. Москва, trip@mail.ru

Белова Мария Владимировна (Belova Maria Vladimirovna), доктор биологических наук, старший научный сотрудник ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», 129090, г. Москва, manibel@gmail.com

Цель исследования – изучение структуры острых отравлений у геронтологических больных на современном этапе.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили данные отчетов отделения лечения острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского за период с 2009 по 2014 г. и «Медицинские карты стационарного больного» пациентов, проходивших лечение в указанные сроки.

Статистический анализ данных проведен с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel.

Результаты и обсуждение. Данные отчетов отделения лечения острых отравлений за 2009-2014 гг. свидетельствуют о том, что за последние 2 года отмечается рост числа пациентов, обратившихся за медицинской помощью (рис.1). Среди них доля лиц старше 60 лет варьирует от 13% в 2009 г до 10% в 2014, в среднем – 12,5% от общего числа больных. Женщины составили 70,7%, мужчины 29,3%. Вероятно, это соотношение имеет непосредственную связь с общей структурой стареющего населения, в которой на долю женщин в возрасте 65 лет и старше приходится 69%.

Многочисленные научные исследования и клинические наблюдения свидетельствуют о существенном изменении морфологии и функции всех систем и органов человеческого организма по мере его старения. Одним из наиболее распространенных подходов оценки старения является время или возраст, который отражает длительность существования организма от факта его рождения до настоящего момента. Данный временной интервал может быть измерен в различных масштабах. Существует понятие «возрастной период», которое отражает конкретную стадию (период) биологического и социально-психологического развития личности. Периодизация возраста – это разграничение человеческой жизни на отдельные этапы по биологическим, социальным и экономическим характеристикам. В реальности установление границ возрастных периодов жизни человека всегда условно: индивидуально и исторически они могут смещаться в ту или



Рис. 1. Число геронтологических больных среди общего количества госпитализированных в отделение лечения острых отравлений НИИ СП им. Н.В. Склифосовского за 2009-2014 годы

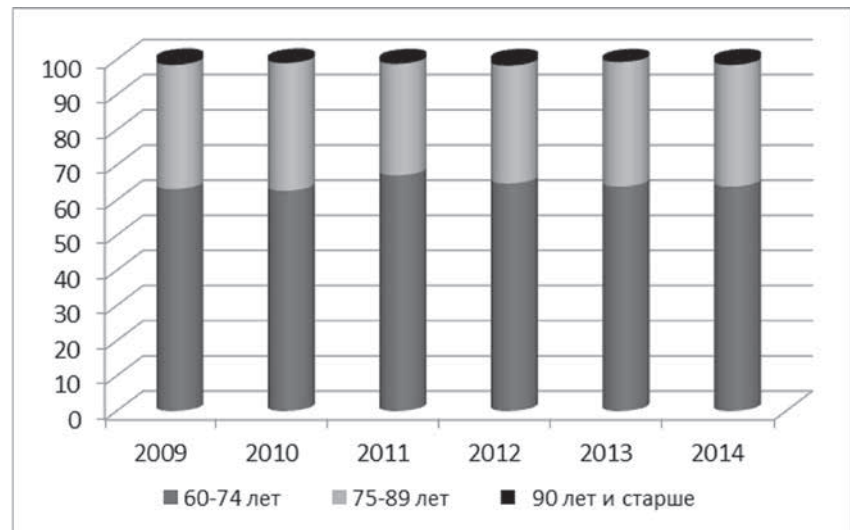


Рис. 2. Возрастная структура геронтологических больных с острыми отравлениями в отделении лечения острых отравлений НИИ СП им. Н.В. Склифосовского за 2009-2014 годы

иную сторону. Особенно это относится к периоду старения, когда бывает достаточно сложно разграничить старческий возраст с пожилым, с одной стороны, и долгожительским – с другой [6].

Согласно современной классификации ВОЗ выделяют пожилой возраст 60-74 года; старческий возраст – 75-89 лет; долгожители 90 лет и старше.

Исходя из данной классификации (рис.2), доля пациентов пожилого возраста составила 64,3%, далее по убывающей: лица старческого возраста 34,5%, долгожители 1,2%.

Основной причиной отравления, как демонстрирует рисунок 3, у пациентов всех возрастных категорий является суицидальная попытка – 71,9%. Это обусловлено рядом факторов, сопут-

ствующих пожилому возрасту, в том числе: ухудшение здоровья, потеря близких, одиночество, нередко, прекращение профессиональной деятельности, которые на фоне возникающей к этому времени сосудистой патологии, могут вызывать депрессивные состояния [1].

Отмечена четкая взаимосвязь состояния здоровья пожилых и старых людей с их продолжительностью жизни и активной трудовой деятельностью. Исследование влияния различных социально-экономических факторов на состояние здоровья лиц пожилого и старческого возраста показало, что проблемы, связанные с работой и безработицей среди других находятся на первом месте и имеют наибольшую потенциальную

угрозу для здоровья. Обнаружено, что обращаемость за медицинской помощью у продолжающих трудовую деятельность пенсионеров составила 6,1 % против 69,2 % у лиц, прекративших работать [1].

В среднем у 25,5% больных (рис.3) отравления носят случайный характер, в основном, за счет ошибочного приема лекарств или с целью самоубийства. Криминальные отравления встречаются в единичных случаях (менее 1%) и только в возрастной группе от 60 до 74 лет.

Анализ структуры острых отравлений у геронтологических больных (рис. 4) показывает, что ведущее место на всех этапах исследования занимают отравления психофармакологическими препаратами, в среднем 46,5%.

Это вероятно связано, с большим накоплением в быту указанных лекарств, которые пациенты принимают по назначению врача для лечения функциональных и органических нарушений центральной нервной системы. Обращает на себя внимание увеличение числа отравлений препаратами кардиотропного действия до 13,6%. На наш взгляд, это, в первую очередь, обусловлено широкой распространенностью заболеваний сердечно-сосудистой системы [7], и употреблением указанных лекарственных средств с лечебной целью. Многие представители этих классов включены в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов» [8] и отпускаются в аптечной сети без рецепта, что повышает их доступность населению и, соответственно, увеличивает риск отравлений. На этом фоне отмечается снижение частоты острых отравлений веществами прижигающего действия, которые составляют в среднем 11,1%. Такой же процент приходится на комбинированные отравления, включающие несколько различных лекарств, в том числе психотропные, гипотензивные, спазмолитические, антидиабетические и другие. Отравления другими веществами встречаются в небольшом проценте случаев, в том числе оксидом углерода -3,2%, алкоголем и его суррогатами-2,4%, растительными ядами (чемерица, аконит, борщевик и др.) – 0,27-0,78%; грибами, фосфорорганическими инсектицидами, дихлорэтаном, растворителями – менее 0,5%.

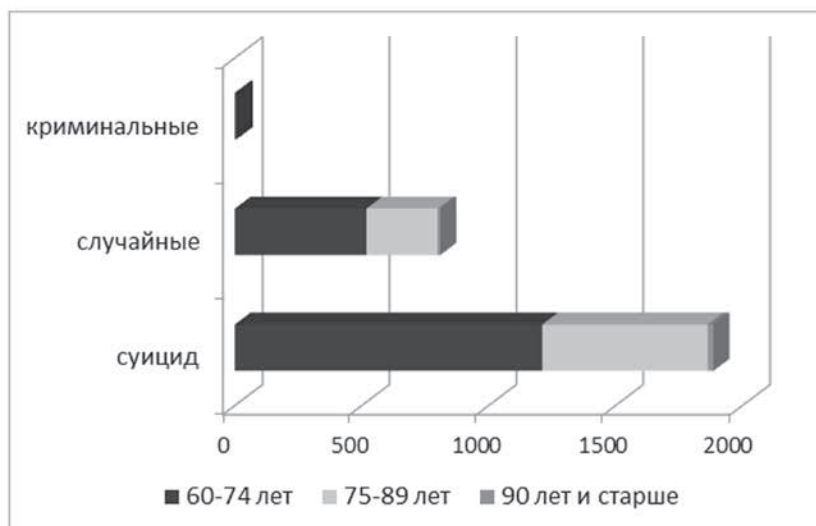


Рис. 3. Причины острых отравлений у геронтологических больных

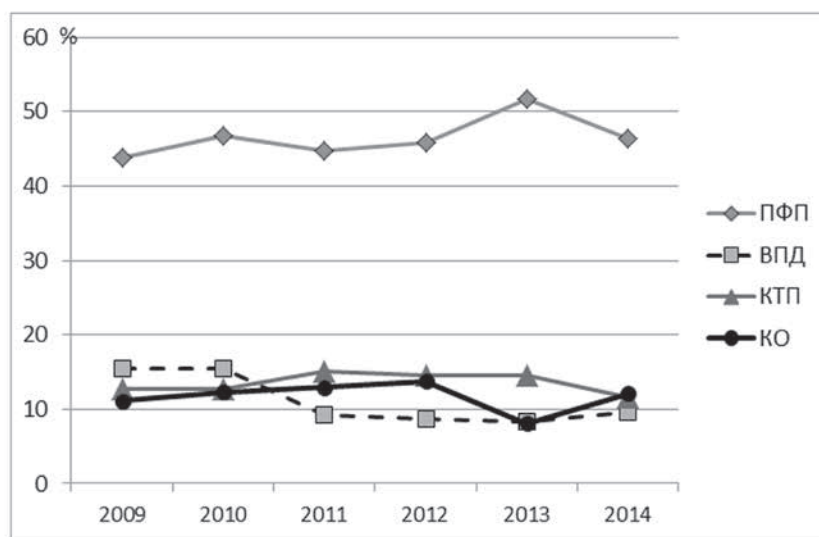


Рис. 4. Распределение острых отравлений по этиологическому фактору у больных 60 лет и старше за 2009-2014 годы.

Примечание: ПФП – психофармакологические препараты; ВПД – вещества прижигающего действия; КТП – кардиотропные препараты; КО – комбинированные отравления

Таблица 1

Анализ летальности у геронтологических больных по годам

Годы	Количество больных по возрастным категориям								
	60 – 74 лет			75 – 89 лет			90 лет и старше		
	всего	умерших	летальность в возрастной группе	всего	умерших	летальность в возрастной группе	всего	умерших	летальность в возрастной группе
2009	301	23	7,6%	168	27	16,0%	7	2	28,6%
2010	300	24	8,0%	173	32	18,5%	4	2	50%
2011	290	31	10,7%	137	34	24,8%	5	3	60%
2012	277	28	10,1%	143	27	18,9%	7	1	14,3%
2013	300	37	12,3%	166	23	13,9%	3	0	0
2014	273	28	10,3%	148	28	18,9%	6	0	0
Среднее значение			9,8 %			18,5%			25,5%

Таблица 2

Причины летального исхода у геронтологических больных с острыми отравлениями токсикантами разных нозологических групп

Причина смерти	Процент летальных исходов при отравлениях токсикантами разных нозологических групп, %					
	Психофармакологические препараты	Вещества прижигающего действия	Кардиотропные препараты	Комбинированные отравления	Прочие	Всего
Пневмония	26,0	10,8	4,3	3,4	3,4	47,9
Интоксикация, шок	4,8	16,1	7,1	2,0	3,7	33,7
Острая сердечно-сосудистая недостаточность	3,7	2,8	0,6	1,1	2,0	10,2
Тромбоэмболия легочной артерии	3,1	0,6	0,3	1,1	0,3	5,4
Острое нарушение мозгового кровообращения	1,1	0,3	0,8	0,6	0	2,8
Итого	38,7	30,6	13,1	8,2	9,4	100

Следует отметить, что от 10 до 20% случаев острые отравления происходят на фоне алкогольного опьянения, большей частью у женщин.

Анализ летальности показал ее рост с увеличением возраста пострадавших (табл.1). Так у пожилых пациентов, в среднем, она составляет 9,8%; в группе лиц от 75 до 89 лет значительно выше – 18,5%, а у долгожителей достигает 25,5%. Это можно объяснить большим количеством сома-

тических заболеваний, функциональными и органическими нарушениями систем и органов организма, которые снижают адаптационные возможности пострадавших старших возрастных групп и способствуют развитию тяжелых осложнений, приводящих к летальному исходу.

Ведущее место среди причин смерти у данного контингента больных (табл. 2) занимают госпитальные пневмонии, в большей степени,

отмечаемые при отравлениях препаратами психофармакологического действия. На втором месте – интоксикация и шок, чаще других наблюдаемые при отравлениях веществами прижигающего действия. Такие причины смерти как острая сердечно-сосудистая недостаточность, тромбоэмболия легочной артерии и острое нарушение мозгового кровообращения имеют место в соматогенной стадии отравлений, и в наибольшем проценте случаев (7,9%) обнаруживаются

у больных с острыми отравлениями психофармакологическими препаратами.

Заключение. Из изложенного следует, что острые отравления у больных пожилого и старческого возраста на современном этапе представляют актуальную медицинскую проблему, в связи со значительной частотой возникновения и высокой летальностью, и требуют детального изучения с целью повышения эффективности их лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лазебник Л.Б., Верткин А.Л., Конев Ю.В., Ли Е.Д., Скотников А.С. Старение. Профессиональный врачебный подход: нац. рук-во. М.: Эксмо, 2014. – 320 с
2. Гладченко Ю.Л., Бухарцева Н.В., Арустамян А.В., Парфенов Л.Л. Актуальная медико-социальная проблема в Астраханской области – острые химические отравления. // Эффективность состояния и организация токсикологической службы Уральского Федерального округа в совершенствовании оказания помощи больным с острыми отравлениями : тез. докл. II науч. конф. Уральского федерального округа 19-20 сентября 2013 г. Екатеринбург: изд-во

УГМУ, 2013. – С.30-32.
3. Вишневецкий М.К., Терехин Г.А. Структурный анализ острых отравлений в Пермском крае 2002-2011 гг. // Эффективность состояния и организация токсикологической службы Уральского Федерального округа в совершенствовании оказания помощи больным с острыми отравлениями: тез. докл. II науч. конф. Уральского федерального округа 19-20 сентября 2013 г. Екатеринбург: изд-во УГМУ, 2013. – С.22-24.
4. Салдан И.П., Карпова Е.Н., Ушаков А.А. Острые отравления химической этиологии в разрезе социальных и возрастных групп населения (на основе

социально-гигиенического паспорта Алтайского края) // Эффективность состояния и организация токсикологической службы Уральского Федерального округа в совершенствовании оказания помощи больным с острыми отравлениями : тез. докл. II науч. конф. Уральского федерального округа 19-20 сентября 2013 г. Екатеринбург: изд-во УГМУ, 2013. – С.68-73
5. Остапенко Ю.Н., Александрова Г.А., Ковалев А.В., Гасимова З.М., Ермохина Т.В., Дмитриева И.В. О состоянии и проблемах токсикологической помощи в Российской Федерации // IV съезд токсикологов России. 6-8 ноября 2013

г. Москва: сборник трудов. – М., Capital Press, 2013. – С.27-30.
6. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: рук-во для врачей. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 976 с.
7. Российский статистический ежегодник. 2014: Стат. сб. М.: Росстат, 2014. 693 с
8. Об утверждении перечней жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2015 год. Распоряжение от 30 декабря 2014 года № 2782 – р // government.ru, 4 января 2015.

REFERENCES:

1. Lazebnyk L.B., Vertkin A.L., Konev Yu.V., Li E.D., Skotnikov A.S. Aging. Professional medical approach : nat. Hands-on . M.: Eksmo, 2014. – 320 c (in Russian)
2. Gladchenko J.L., Bukhartsev N.V., Arustamian A.V., Parfenov L.L. Current medical and social problem in the Astrakhan region – acute chemical poisoning // Efficiency status and organization of Toxicology Service of the Ural Federal District in improving the delivery of care to patients with acute poisoning : abstracts II scientific conf. of the Urals Federal District 19-20 September 2013 / Ekaterinburg: Publishing House

UGMU, 2013. – P.30-32 (in Russian)
3. Vishnevetskii M.K., Terekhin G.A. Structural analysis of acute poisoning in the Perm region 2002-2011 // Efficiency status and organization of Toxicology Service of the Ural Federal District in improving the delivery of care to patients with acute poisoning : abstracts II scientific conf. of the Urals Federal District 19-20 September 2013 / Ekaterinburg: Publishing House UGMU, 2013. – P.22-24 (in Russian)
4. Saldan I.P., Karpova E.N., Ushakov A.A. Acute poisonings of chemical etiology in the context of social and age groups

of the population (based on socio-hygienic passports of the Altai Territory) // Efficiency status and organization of Toxicology Service of the Ural Federal District in improving the delivery of care to patients with acute poisoning : abstracts II scientific conf. Of the Urals Federal District 19-20 September 2013 Ekaterinburg : Publishing House UGMU , 2013. – P.68-73 (in Russian)
5. Ostapenko YuN, Alexandrov GA, Kovalev AV, Gasimova ZM, Yermokhina TV, Dmitrieva IV. About condition and problems of toxicological care in the Russian Federation // IV Russian Congress

of Toxicology, 6-8 November 2013 Moscow: Proceedings. – M., Capital Press, 2013. – P.27-30 (in Russian).
6. Kishkun A.A. Biological age and aging: to be identified and ways of correction : Hand – in for doctors . –M : GEOTAR Media, 2008. – 976 p (in Russian)
7. Russian statistical Yearbook. 2014: a Statistical compendium. M.: Rosstat, 2014. 693 p (in Russian)
8. Approval of the list of vital and essential drugs for medical use in 2015. Order of December 30, 2014 № 2782 – p // government.ru January 4, 2015. (in Russian)

K.K. Ilyashenko, A.Yu. Simonova, M.V. Belova

A STRUCTURAL ANALYSIS OF ACUTE EXOTOXICOSES IN PEOPLE OF ELDERLY AND SENILE AGE

N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Healthcare Department of Moscow, 12090 Moscow 6Russian Federation

Based on the analysis of reports of the Department for treatment of acute poisonings at the N.V. Sklifosovskiy Research Institute of Emergency Medicine from 2009 to 2014 and medical records of in-patients hospitalized during that period, the structure of acute poisoning in elderly and senile patients was investigated. The share of patients of the senior age groups averages 12.5% of all patients. The most frequent reason for poisoning is a suicide attempt-71.9%. Psychopharmacological (46.5%) and cardiotropic (13.6%,) medications take the key place in poisonings as well as combined poisonings. The lethality analysis revealed its growth with increase in age of victims. One of the main causes of lethal outcomes is pneumonia.

Keywords: acute poisonings, elderly and senile patients, lethality.

Переработанный материал поступил в редакцию 24.06.2016 г.

УДК 615.099

ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Т.П. Пинчук¹, К.К. Ильяшенко²,
С.Г. Мурадян³, Т.В. Клокова²

¹УКБ №4 «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Минздрава России», 119991, г. Москва, Российская Федерация, 1

²ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», 129090, г. Москва, Российская Федерация

³ГКБ №57», 105077, г. Москва, Российская Федерация

В статье представлены результаты эндоскопической диагностики и лечения 58 пострадавших с химическим ожогом дыхательных путей, что составило 16,9% наблюдений от всех пациентов, поступивших с отравлениями веществами прижигающего действия. Дана эндоскопическая и рентгенологическая семиотика химического ожога дыхательных путей. Оценена распространенность и тяжесть повреждения дыхательных путей в зависимости от степени химического ожога пищевода. Установлено, что ожоговый ларинготрахеобронхит в 77,6% наблюдений осложняется развитием пневмонии, а в 6,9% – рубцовым сужением трахеи и бронхов. Локализация и скорость развития инфильтративных изменений в легких позволяют предполагать ведущую роль в генезе пневмонии аспирации прижигающей жидкости. Лечебная бронхоскопия включала в себя санацию трахеобронхиального дерева 0,01% раствором диоксида и лазерную фотостимуляцию низкоэнергетическим лазером красного диапазона. Лечебные сеансы выполняли 3 раза в неделю. В зависимости от тяжести химического ожога дыхательных путей выполнено от 1 до 10 сеансов. Выздоровление наступило у всех пациентов.

Ключевые слова: химический ожог, дыхательные пути, бронхоскопия, пневмония.

Введение. Среди бытовых экзогенных интоксикаций отравления веществами прижигающего действия занимают одно из ведущих мест [1,2,3]. Несмотря на то, что их доля в общей структуре острых экзотоксикозов в последние годы значительно уменьшилась, в Москве она достигает 12,2%, в Санкт-Петербурге – 16,6%, в отдельных регионах России – 13,6% [4].

При острых отравлениях веществами прижигающего действия развивается химический вариант ожоговой болезни вследствие их местного и общего резорбтивного действия. Прижигающее действие в большей степени проявляется в верхних отделах желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей. Химический ожог дыхательных путей (ХОДП) возникает при ингаляции концентрированных паров или при аспирации в момент приема прижигающей жидкости.

Это приводит к развитию воспалительных изменений в трахее, бронхах и легочной ткани. В первые двое суток после отравления может развиваться и аспирационно-обтурационные нарушения внешнего дыхания, проявляющееся симптомокомплексом механической асфиксии [1].

При ожоге голосовых связок отмечается осиплость, вплоть до афонии, длительное время беспокоящая больных. Часто развиваются ранние гнойные трахеобронхиты с обильным слизисто-гнойным, трудно отделяемым из-за болезненности секретом, и ранние бронхопневмонии, нередко имеющие сливной характер [4].

Учитывая тяжесть течения ХОДП и высокую частоту осложнений, важное значение приобретает его ранняя диагностика и лечение. В настоящее время основным и ведущим методом диагностики ХОДП является фи-

Пинчук Татьяна Павловна (Pinchuk Tatyana Pavlovna), доктор медицинских наук, зав. отделением эндоскопии УКБ №4 «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Минздрава России», 119991, г. Москва, 196015@bk.ru

Ильяшенко Капитолина Константиновна (Ilyashenko Kapitolina Konstantinovna), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», 129090, г. Москва, toxikara@mail.ru

Мурадян Сона Гагиковна (Muradyan Sona Gagikovna), врач отделения эндоскопии ГКБ №57, 127282, г. Москва, Российская Федерация, sonja27@bk.ru.
Клокова Татьяна Викторовна (Klokova Tatyana Viktorovna), врач отделения рентгенологических методов исследования ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», 129090, г. Москва, dr_klokova@mail.ru

бронхоскопия (ФБС). Эндоскопическое исследование позволяет не только визуально оценить состояние слизистой оболочки трахеобронхиального дерева, но и оказать прямое лечебное воздействие [5,6].

Следует отметить, что, несмотря на актуальность проблемы, работы, касающиеся ХОДП встречаются в единичных случаях [7,8].

Целью данного исследования явилось изучение частоты развития ХОДП при острых отравлениях веществами прижигающего действия, их тяжести и распространенности, а также разработка способов их эндоскопического лечения.

Материалы и методы исследования. В 2012-2013гг. в отделении лечения острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского находилось 344 пациента с острыми отравлениями веществами прижигающего действия. Из них у 58 пострадавших (16,9%) был выявлен ХОДП. Возраст больных колебался от 18 до 90 лет и составил в среднем $60,56 \pm 7,9$ лет. Мужчин было 33, женщин – 25.

Отравление произошло вследствие приема неизвестной жидкости прижигающего действия (24), уксусной кислоты (20), нашатырного спирта (5), щелочи (3), перманганата калия (2). По одному больному приняли – растворитель, смесь азотной и соляной кислот, антифриз.

Всем пациентам при поступлении выполняли экстренную эзофагогастроуденоскопию (ЭГДС). В случае выявления признаков повреждения надскладчатого отдела гортани, им дополнительно проводили обследование дыхательных путей рентгенологическим и эндоскопическим методами. Тяжесть ХОДП оценивали по классификации А.Ю. Скрипаля (1990), разработанной для термической травмы, а тяжесть химического ожога пищевода (ХОП) – по классификации В.И. Волкова (1988), дополненной другими авторами, согласно которым 1 степень – катаральное воспаление, 2 степень – эрозивное, 3 степень – язвенное. 4 степень – некротическое [5,8,9].

Эндоскопическое лечение ХОДП включало в себя санацию трахеобронхиального дерева антисептическим раствором (0,01% раствор диоксидина) с последующим облучением поврежденной слизистой оболочки трахеи и бронхов низкоэнергетическим лазером красного диапазона «Мустанг-2000». Световод проводили через канал эндоскопа. Сила тока составила 10 мА, частота колебаний световых волн – 3000 Гц. Экспозиция воздействия колебалась от 3 до 10 мин,

длительность облучения одной точки не превышала 1 мин. Лечебные сеансы выполняли 3 раза в неделю. Их количество колебалось от 1 до 10.

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы «Статистика 10,0». Достоверность различий величин определяли по критерию χ^2 .

Результаты и обсуждение. Учитывая то обстоятельство, что ХОДП возникает у больных с химическими ожогами верхних отделов желудочно-кишечного тракта, мы сочли целесообразным проанализировать связь между тяжестью ХОП и распространенностью ХОДП. Диагностическая ФБС показала, что у 53 из 58 пациентов (91,4%) ХОДП распространялся от гортани до бронхов, т.е. имел место ожоговый ларинготрахеобронхит, который сопровождал ХОП от 2 до 4 степени тяжести включительно (табл. 1).

При этом наиболее часто (91,8%) ожоговый ларинготрахеобронхит был диагностирован при ХОП 3 степени, тогда как ожоговый ларинготрахеит – при ХОП 4 степени. По-видимому, ХОП 4 степени чаще сопровождался спазмом трахеи, который препятствовал распространению токсиканта дистально по бронхам.

Таблица 2 демонстрирует, что между тяжестью ХОДП и тяжестью ХОП отчетливо прослеживается тенденция к прямой зависимости. Так при ХОП 2 степени тяжесть ХОДП была не выше II степени, при ХОП 3 степени у 25% пострадавших диагностирован ХОДП III степени, а при ХОП 4 степени в 35,3% наблюдений развился ХОДП III степени и в 23,5% – ХОДП IV степени. Причем, у 1 из 4 больных с ХОДП IV степени был выявлен некроз всей толщи задней стенки трахеи с образованием трахеомедиастинальной полости, у 2 – некроз слизистой и мышечной оболочек трахеи и еще в одном случае – некроз слизистой и мышечной оболочек среднедолевого бронха.

У 45 из 58 пациентов с ХОДП (77,6%) при рентгенологическом исследовании, выполненном в 1-3 сутки с момента поступления, была выявлена воспалительная инфильтрация в легких (табл.3).

Из таблицы 3 следует, что если при ХОДП I–II степени частота пневмонии была 58-53%, то при ХОДП III – IV степени – уже 80-75%. У 17 пострадавших (37,8%) пневмония локализовалась в нижней доле правого легкого, у 9 (20%) – в прикорневой зоне, у 5 (11,1%) – распространялась на все правое легкое и у 14 (31%) – на оба легких. Такая локали-

зация воспалительной инфильтрации легких подтверждает аспирационный характер повреждения. У 8 из 45 больных (17,8%) пневмония сопровождалась ателектазом, который реже всего (4,2% наблюдений) возникал при ХОДП легкой степени

Анализ результатов лечебной ФБС, проводимой в комплексе лечебных мероприятий ХОДП показал, что для полной репарации слизистой оболочки при I степени пораже-

ния трахеи и бронхов для их восстановления достаточным было $1,93 \pm 0,29$ процедур. Для лечения ХОДП II и III степени их требовалось $3,3 \pm 0,62$ и $3,75 \pm 0,63$ соответственно, а при ХОДП IV степени количество лечебных эндоскопических сеансов возрастало до $8,25 \pm 1,3$.

Следует отметить, что поскольку при ХОДП IV степени повреждение стенки трахеи и бронхов было глубоким и захватывало мы-

Таблица 1

Распространенность ХОДП у больных с различной степенью тяжести ХОП (n=58)

Степень. ХОП Распространенность ХОДП	2 степень	3 степень	4 степень	Всего
Ожоговый ларингит	-	1 (2,7%)	-	1 (1,7%)
Ожоговый ларинготрахеит	-	2 (5,4%)	2 (11,8%)	4 (6,9%)
Ожоговый ларинготрахеобронхит	4 (100%)	34 (91,8%)	15 (88,2%)	53 (91,4%)
Итого	4 (100%)	37 (100%)	17 (100%)	58 (100%)

Примечание: достоверных различий между соседними показателями одной строки не выявлено.

Таблица 2

Зависимость тяжести ХОДП от тяжести ХОП (n=58)

Степень ХОП Степень ХОДП	2 степень	3 степень	4 степень	Всего
I степень	2 (40%)	17 (47,2%)	5 (29,4,3%)	24 (100%)
II степень	3 (60%)	10 (27,8%)	2 (11,8%)	15 (100%)
III степень	-	9 (25%)	6 (35,3%)	15 (100%)
IV степень	-	-	4 (23,5%)	4 (100%)
Всего	5 (8,6%)	36 (62%)	17 (29,3%)	58 (100%)

Примечание: достоверных различий между соседними показателями одной строки не выявлено.

Результаты рентгенологического исследования легких в зависимости от тяжести ХОДП (n=58)

Степень ХОДП Характер повреждения легких	I степень	II степень	III степень	IV степень	Всего
Пневмония	14 (58,3%)	8 (53,3%)	12 (80%)	3 (75%)	37 (63,8%)
Пневмония, осложненная ателектазом	1 (4,2%)	3 (20,0%)	3 (20%)	1 (25%)	8 (13,8%)
Инфильтративных изменений не выявлено	9 (37,5%)	4 (26,7%)	-	-	13 (22,4%)
Итого	24 (100%)	15 (100%)	15 (100%)	4 (100%)	58 (100%)

Примечание: достоверных различий между соседними показателями одной строки не выявлено.

шечную оболочку, при репарации этих дефектов развились рубцовые стриктуры: у 3 больных – трахеи, у 1 – правого среднедолевого бронха. Выздоровление наступило у всех пациентов. Летальных исходов не было.

Как показало проведенное исследование, ХОДП выявлен у 16,9% пострадавших с острыми отравлениями веществами прижигающего действия. Публикации, посвященные этому осложнению, в литературе встречаются редко. Это связано с двумя обстоятельствами. Во-первых, первичные данные о повреждении надскладкового отдела гортани получают при экстренной гастроскопии, которая выполняется с целью диагностики ХОП после того, как у пострадавшего уже диагностирован химический ожог ротовой полости и глотки. В этой ситуации все внимание врача-эндоскописта, как правило, нацелено на диагностику тяжести ХОП. Кроме того на фоне ожоговой травмы глотки и пищевода у пациентов значительно повышается рвотный рефлекс и развивается гиперсаливация, что крайне затрудняет визуализацию гортани. Во-вторых, в первые часы повреждения на слизистой гортани ожоговые изменения могут еще отсутствовать [10,11]. Имеет значение и тот факт, что клиническая картина химического ожога пищевода, как правило, выходит на первый план, в то время как бронхолегочная симптоматика может запаздывать [4]. Поэтому, нередко ХОДП диагностируют только во время фибробронхоскопии при уже развившейся клинике трахеобронхита (кашель, одышка, повышение температуры).

В связи с этим, полноценное лечение запаздывает, что приводит к распространению воспалительного процесса на легкие и развитию пневмонии [1,11].

Как показали приведенные выше данные, пневмония при ХОДП развивается у 77,6% пострадавших. На аспирационный характер пневмонии указывают скорость развития воспалительной инфильтрации в легочной ткани и ее локализация. У всех 45 больных было повреждено правое легкое, а у 14 пострадавших (31%) пневмония была двухсторонней. Ателектаз осложнил течение пневмонии в 13,8% наблюдений.

В процессе исследований было установлено, что по мере увеличения тяжести ХОП нарастает распространенность и степень повреждения слизистой оболочки трахеобронхального дерева. Это диктует необходимость обязательного проведения диагностической ФБС при выявлении ХОП 3 и 4 степени.

Из изложенного следует, что ХОДП является актуальной медицинской проблемой, так как приводит к опасным для жизни осложнениям, а в некоторых случаях – к инвалидизации больных, требует ранней диагностики и своевременного лечения.

Заключение. Проведенное исследование показало, что острые отравления веществами прижигающего действия в 16,9% случаев сопровождаются ожоговым ларинготрахеобронхитом, который у 6,9% пострадавших осложняется рубцовыми структурами трахеи и бронхов. Имеется тенденция к прямой зависимости распространенности и тяжести

ХОДП от тяжести ХОП, в связи с этим у пострадавших с ХОП III и IV степени для исключения ХОДП целесообразно выполнение бронхоскопии.

Воспалительные инфильтраты в легких развиваются у 77,6% пострадавших с ХОДП.

Эндоскопическое лечение, включающее в себя санацию трахеобронхиального дере-

ва антисептическим раствором и лазерную фотостимуляцию низкоэнергетическим лазером красного диапазона, обеспечивает положительный клинический эффект у всех пострадавших. Длительность эндоскопического лечения определяется тяжестью повреждения и колеблется от $1,93 \pm 0,29$ до $8,25 \pm 1,30$ сеансов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Е.А. Лужникова. Медицинская токсикология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
2. Е.А. Лужников, Г.Н. Суходолова. Клиническая токсикология. 4-е изд., перераб. и доп. М.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2008.
3. Jovancevic L., Dankuc D. Corrosive substance ingestions management. Med Pregl. 2008; 61 Suppl 2: 41-6.
4. Е.А. Лужников, Л. Г. Костомарова. Острые отравления. Руководство для врачей. 2-е изд., перераб. и доп. М.:

Медицина; 2000.
5. А.Ю. Скрипаль. Диагностическая и лечебная фиброbronхоскопия при ожогах дыхательных путей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1990.
6. Чернеховская Н. Е. Современные технологии в эндоскопии. М.: Российская медицинская академия последипломного образования; 2004.
7. И.Ф. Шпаков, И.О. Вenevитинов, В.А. Соколов. Термохимические поражения дыхательных путей. СПб: Военно-мед. акад; 2003.

8. Ермаченкова Е. И., Левицкая Н. Н., Гуськова Е. Р., Пинчук Т. П. Эндоскопическая диагностика и лечение химических ожогов желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей. Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь. 2012; 3. 64-68.
9. В.И. Волков. Эзофагогастродуоденоскопия при химических ожогах верхнего отдела желудочно-кишечного тракта. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 1988.
10. Г.Ф. Паламарчук, А.Р. Успен-

ская. Экстренная диагностическая и лечебная бронхофиброскопия при неотложных состояниях в пульмонологии. Актуальные вопросы неотложной эндоскопии: Материалы научно-практической конференции. 14 декабря 2001 г. СПб.; 2001.
11. Герасимова Л. И., Логинов Л. П., Смольский Б. Г. Диагностика и лечение ожогов дыхательных путей. Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 1979; 8. 96-100.

REFERENCES:

1. E.A. Luzhnikova. Medical Toxicology. National leadership. Moscow: GEOTAR-Media; 2012 (in Russian).
2. E.A. Luzhnikov, G.N. Sukhodolova. Clinical Toxicology. 4th edition, revised and enlarged. Moscow: OOO «Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo»; 2008 (in Russian).
3. Jovancevic L., Dankuc D. Corrosive substance ingestions management. Med Pregl. 2008; 61 Suppl 2: 41-6.
4. E.A. Luzhnikov, L. G. Kostomarov. Acute poisoning. Guidelines for doctors. 2nd edition, revised and enlarged.

Moscow: Meditsina; 2000 (in Russian).
5. A.Yu. Skripal'. Diagnostic and therapeutic bronchoscopy for burns of the respiratory tract: the author's abstract of the dissertation of the PhD. Moscow; 1990 (in Russian).
6. Chernekhovskaya N.E. Modern technology in endoscopy. Moscow: Rossiyskaya meditsinskaya akademiya posle diplomnogo obrazovaniya; 2004 (in Russian).
7. I.F. Shpakov, I.O. Venevitinov, V.A. Sokolov. The thermochemical destruction of the respiratory tract. Saint-Petersburg:

Военно-мед. акад; 2003 (in Russian).
8. Ermachenkova E.I., Levitskaya N.N., Gus'kova E.R., Pinchuk T.P. The endoscopic diagnosis and treatment of chemical burns of the gastrointestinal tract, and respiratory tract. Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo Neotlozhnaja medicinskaja pomoshh'. 2012; 3. 64-68 (in Russian).
9. V.I. Volkov. Esophagogastroduodenoscopy with chemical burns of the upper gastrointestinal tract: the author's abstract of the dissertation of the PhD.

Moscow. 1988 (in Russian).
10. G.F. Palamarchuk, A.R. Uspenskaya. Emergency diagnostic and therapeutic bronchofiberscope in urgent situations in pulmonology. Topical issues of urgent endoscopy: Proc. of the conference. 14 December 2001. Saint-Petersburg; 2001 (in Russian).
11. Gerasimova L.I., Loginov L.P., Smol'skiy B.G. Diagnosis and treatment of respiratory tract burns. Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova. 1979; 8. 96-100 (in Russian).

T.P. Pinchuk¹, K.K. Ilyashenko², S.G. Muradyan³, T.V. Klokova²

ENDOSCOPIC DIAGNOSTICS AND THERAPY OF CHEMICAL BURNS IN RESPIRATORY TRACTS

¹ University Clinical Hospital No 4, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991 Moscow, Russian Federation

² N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Healthcare Department of Moscow, 12090 Moscow, Russian Federation

³ State Clinical Hospital No 57, 105077 Moscow, Russian Federation

Results of endoscopic diagnostics and treatment of 58 victims with chemical burns of airways are reported. They made 16.9% of observations of all patients admitted to hospital with poisonings by cauterizing substances. Endoscopic and X-ray semiotics of airways chemical burns is reported. The incidence and severity of airways lesions in relation to the degree of esophagus chemical burns were assessed. It is established that burn laryngotracheo bronchitis became complicated by the development of pneumonia in 77.6% of observations, and in 6.9% by cicatricial narrowing of the trachea and bronchi. Localization and the development speed of infiltrative changes in lungs allow to assume that the aspiration of cauterizing liquids plays the key role in the pneumonia genesis. The therapeutic bronchoscopy included toilet bronchoscopy of the trachea bronchial tree with 0.01% solution of diokxydin and laser photo stimulation with a red-range low-energy laser. Therapeutic sessions were carried out 3 times a week. From 1 to 10 sessions were performed depending on the severity of airways chemical burns. Convalescence of all patients was achieved.

Keywords: chemical burn; airways; bronchoscopy, pneumonia.

Материал поступил в редакцию 13.04.2016 г.

УДК 544.772.43:[613.633:669]:543.449:543.51:549.086

ИССЛЕДОВАНИЯ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ В СОСТАВЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ АЭРОЗОЛЕЙ И ВЗВЕШЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

*Статья в виде доклада была заслушана на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения".

Н.В. Зайцева¹, Т.С. Уланова^{1,2},
А.В. Злобина¹, М.В. Волкова^{1,2},
М.И. Гилева¹

¹ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, г. Пермь, Российская Федерация

²ФГБОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», 614990, г. Пермь, Российская Федерация

Приведены результаты практических исследований воздуха рабочей зоны предприятий горнодобывающей, резинотехнической и химической промышленности на содержание частиц нанодиапазона. В качестве сравнения исследовали воздух рабочего места администрации или работника ИТР, не имеющего контакта с производственным процессом.

Результаты исследований приведены в виде счетной концентрации наночастиц в максимуме распределения частиц, в см³ и диапазона размеров частиц, на который приходится максимум распределения, нм.

Для каждого производства установлены рабочие места с максимально высокими характеристиками относительно рабочего места сравнения.

Приведенные исследования могут быть использованы при оценке условий труда и профессионального риска на производствах наноматериалов, а также производственных процессов с образованием наночастиц.

Ключевые слова: наночастицы, взвешенные вещества, воздух рабочей зоны, диффузионный аэрозольный спектрометр, наноразмерный диапазон, ультратонкие частицы.

Введение. Одним из актуальных направлений в деятельности Роспотребнадзора связанным с ростом применения нанотехнологий в различных отраслях промышленности, является исследование условий труда на предприятиях, использующих производственные процессы с высоким риском вредного воздействия наноразмерных аэрозолей. Доказанным высоким риском характеризуются электродуговая сварка и резка металлов, пирометаллургические процессы,

производство и применение лакокрасочных материалов, нанесение защитных нанопокровов, газо-аэрозольные выхлопы дизельных двигателей, производство наночастиц оксидов металлов и порошковая металлургия [1].

Сотрудниками лаборатории методов анализа наноматериалов и мелкодисперсных частиц ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора с целью выявления, идентифи-

Зайцева Нина Владимировна (Zaitseva Nina Vladimirovna), доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (ФНЦ МПТ УРЗН), 614045, г. Пермь, root@fcrisk.ru;

Уланова Татьяна Сергеевна (Ulanova Tatiana Sergeevna), доктор биологических наук, зав. отделом химико-аналитических методов исследований ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (ФНЦ МПТ УРЗН), профессор ФГБОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», 614990, г. Пермь, ulanova@fcrisk.ru;

Злобина Анастасия Витальевна (Zlobina Anastasiia Vitalyevna), кандидат биологических наук, зав. лабораторией методов анализа наноматериалов и мелкодисперсных частиц ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (ФНЦ МПТ УРЗН), 614045, г. Пермь;

Волкова Марина Валерьевна (Volikova Marina Valeryevna), химик ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (ФНЦ МПТ УРЗН), магистрант ФГБОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», 614045, г. Пермь;

Гилева Марина Игоревна (Gileva Marina Igorevna), инженер-исследователь ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (ФНЦ МПТ УРЗН), 614045, г. Пермь, lelyum1986@yandex.ru.

кации и оценки содержания наночастиц выполнены исследования ультрадисперсных аэрозолей в воздухе рабочей зоны различных производств [2, 3, 4]. Задачей исследования было сравнение содержания массовой концентрации взвешенных веществ и счетной концентрации наночастиц в воздухе рабочей зоны при различных видах производственных процессов.

Материалы и методы исследования. Массовую концентрацию взвешенных веществ определяли в соответствии с МУК 4.1.2468-09 [5]. Визуализация частиц аэрозоля, собранного на фильтр АФА-ВП, проведена методом сканирующей электронной микроскопии с использованием оборудования ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ на сканирующем электронном микроскопе Tescan MIRA3. Проведена идентификация размеров наночастиц в воздухе рабочей зоны с использованием диффузионного аэрозольного спектрометра ДАС 2702 согласно ГОСТ Р 54597-2011/ISO/TR 27628:2007 п. 6.3.4. [6], ГОСТ Р 8.755 – 2011 [7]. Диффузионный аэрозольный спектрометр сочетает в себе диффузионные батареи и конденсационный счетчик частиц. Возможности прибора включают определение суммарной счетной концентрации частиц в диапазоне от 3 до 200 нм, ширины распределения и спектра распределения по размерам в диапазоне от 3 до 200 нм. Спектр распределения по способу расчета является одно-модальным и позволяет определить следующие параметры: счетная концентрация частиц в ди-

апазоне максимума концентрации, частиц в см³; диапазон размеров частиц, на который приходится максимум концентрации, нм [7]. Время измерения одного набора значений составляло 0,8-1,2 мин. Исследование одного производственного процесса занимало от 10 до 50 мин. Серии измеренных величин подвергали анализу на предмет исключений грубых погрешностей по статистическому критерию Граббса согласно ГОСТ Р 8.736 [8]. В случае динамического изменения величины счетной концентрации во времени, согласно изменению происходящих производственных процессов, величины концентраций в серии объединяли в несколько выборок с помощью критерия Граббса [8].

В связи с отсутствием гигиенического норматива оценки счетной концентрации наночастиц в воздухе рабочей зоны для сравнения использовали аналогичные по алгоритму исследования величины на рабочих местах административных сотрудников или инженерно-технических работников (ИТР) не участвующих в производственных процессах.

Результаты и обсуждения. В 2013, 2015-2016 гг. обследованы предприятия горнодобывающей, резинотехнической и химической промышленности. Результаты идентификации размеров и оценки содержания наночастиц в воздухе рабочей зоны производств указанных отраслей приведены в таблицах 1-3. Фрагменты данных представлены в виде спектров распределения частиц по размерам на рисунках 2-4.

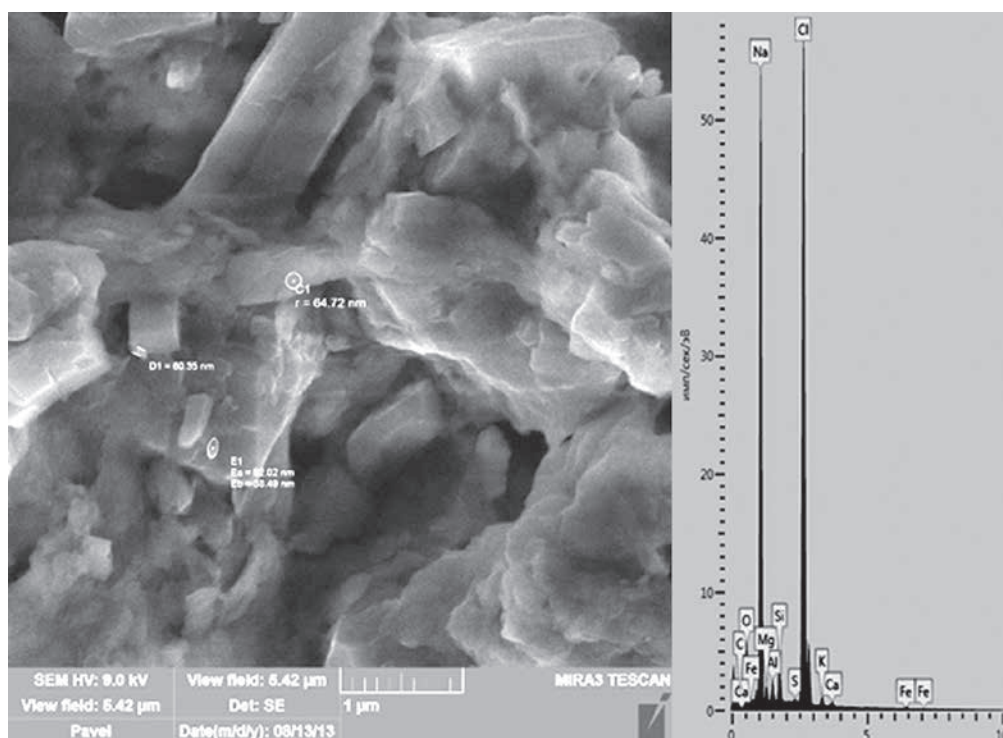


Рис. 1. А) Микрофотография взвешенных частиц пыли на рабочем месте машиниста горных выемочных машин. Подготовка – приклеивание на серебряный клей. Увеличение 25 000. Б) Спектр ЭДА области с выделенными размерами

Таблица 1

Результаты практических исследований воздуха рабочей зоны в нанодиапазоне, предприятие горнодобывающей промышленности

Профессия, рабочее место	Максимальная счетная концентрация частиц, частиц в см ³	Диапазон размеров частиц, на который приходится максимум концентрации, нм
Администрация	1 012±202	30-35
Машинист горных выемочных машин, калийная шахта	1 019±204	60-65
Машинист мельниц	13 805±2 761	20-25
Фильтровальщик, ленточные конвейеры перегрузки готового продукта	6 075±1 215	10-15
Центрифужник 3-го разряда, центрифуги	9 698±1 940	10-15
Аппаратчик дозирования 4-го разряда, баня для выпарки аминов из бочек	42 468±8 494	15-20
Аппаратчик гранулирования 4-го разряда (двухвалковая дробилка)	19 440±3 888	35-40
Аппаратчик гранулирования 3-го разряда (скребковые конвейеры)	26 218±5 243	25-30

Исследования воздуха рабочей зоны предприятия горнодобывающей промышленности осуществляли на рабочих местах машиниста горных выемочных машин, машиниста мельниц, фильтровальщика ленточного конвейера, центрифужника, аппаратчика дозирования в цехе с баней для выпарки аминов из бочек, в сушильно-грануляционном отделении (СГО) на рабочих местах аппаратчика гранулирования двухвалковой дробилки, аппаратчика гранулирования скребковых конвейеров. Ведущими производственными факторами, воздействующими на работников и определяющими структуру риска, являются: пыль сильвинита, шум, тяжесть трудового процесса, работа в подземных условиях. Основной из этих факторов – пылевой. Так, на рабочем месте машиниста горных выемочных машин массовая концентрация взвешенных веществ составила в среднем 77,1 мг/м³, что по порядку величины больше соответствует выбросу промышленного аэрозоля.

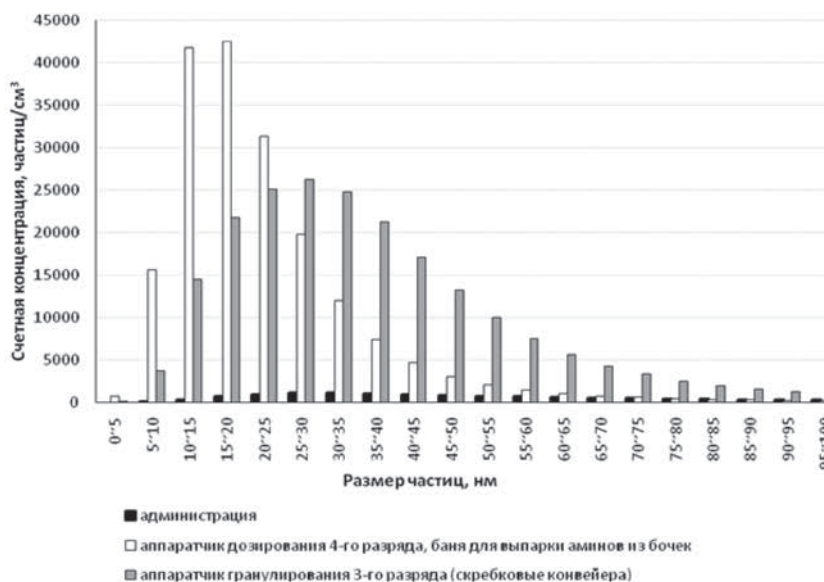


Рис. 2. Спектры распределения частиц по размерам и концентрации в воздухе рабочей зоны на предприятии горнодобывающей промышленности в отношении с рабочим местом сравнения (администрация).

Визуализация частиц аэрозоля (рис.1) совместно с данными о максимуме счетной концентрации частиц (табл. 1) позволяет предположить,

Таблица 2

Результаты практических исследований воздуха рабочей зоны в нанодиапазоне, предприятие резинотехнической промышленности, 2015 год

Рабочее место, профессия,	Максимальная счетная концентрация частиц, частиц в см ³	Диапазон размеров частиц, на который приходится максимум концентрации, нм
Администрация	331±66	30-35
Цех формовой техники, участок вулканизации, вальцовщик резиновых смесей	1 327±265	25-30
Цех формовой техники, участок вулканизации, прессовщик вулканизаторщик	3 182±636	10-15
Цех формовой техники, участок шероховки, шероховщик	388±78	40-45
Цех формовой техники, участок шероховки, обрезчик резиновых изделий	3 106±621	10-15
Цех формовой техники, участок шероховки, машинист стрейнера	2 035±407	10-15
Подготовительный цех, машинист резиносмесителя	1 803±361	20-25
Подготовительный цех, вальцовщик резиновых смесей	3 723±745	20-25

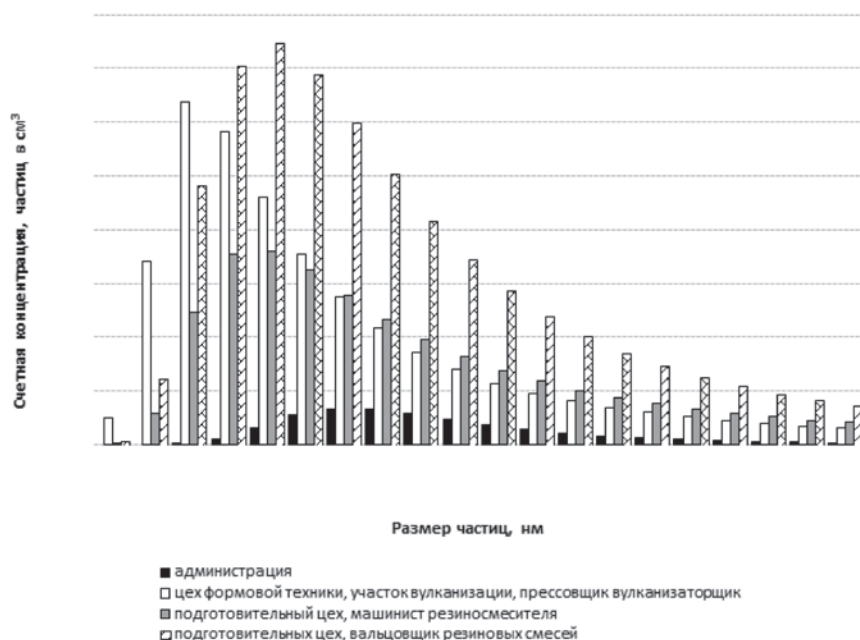


Рис. 3. Спектры распределения частиц по размерам и концентрации в воздухе рабочей зоны на предприятии резинотехнической промышленности отношении с рабочим местом сравнения.

что в процессе добычи калийной руды образуется сравнительно мало ультратонких частиц. Значения счетной концентрации в максимуме

распределения составляет $1\ 019 \pm 204$ частиц в см³ на рабочем месте машиниста горных выемочных машин и лишь незначительно отличается от счетной концентрации на рабочем месте административного работника $1\ 012 \pm 202$ частиц в см³. Вместе с тем, получено различие в размерах частиц с максимальной концентрацией 60-65 нм и 30-35 нм, соответственно. На микрофотографии образца взвешенных веществ присутствуют как кубические кристаллы хлоридов щелочных металлов с размерами граней от 0,5 до 3 мкм (рис. 1), так и отмечено небольшое число частиц наноразмерного диапазона, в основном кристаллических, вытянутой формы палочек или эллипсов, с размером от 60 до 160 нм. С целью идентификации проведен рентгеновский энерго-дисперсионный элементный анализ образцов взвешенных частиц, показавший преобладание

Таблица 3

Результаты практических исследований воздуха рабочей зоны в нанодиапазоне, предприятие химической промышленности, 2016 год

Профессия, рабочее место	Счетная концентрация частиц в максимуме распределения, частиц в см ³	Диапазон размеров частиц, на который приходится максимум распределения, нм
Администрация. Работник ИТР.	10 683±2 137	5-10
Площадка обслуживания печи. Аппаратчик абсорбции.	3 899±780	15-20
Насосная о-ксилола. Аппаратчик подготовки сырья и отпуска полуфабрикатов и продукции.	6 989±1 398	10-15
Газовый холодильник. Аппаратчик окисления.	32 844±6 569	10-15
Площадка обслуживания конденсатора намораживания. Аппаратчик конденсации.	48 544±9 709	0-5
Фасовка фталевого ангидрида. Аппаратчик чешуирования.	14 475±2 895	30-35
Отделение кристаллизации. Аппаратчик производства химических реактивов.	53 832±10 766	40-45
Отделение фумаровой кислоты. Аппаратчик осаждения; аппаратчик кристаллизации.	10 217±2 043	5-10

натрия и хлора с примесями магния, кремния, кальция и других элементов.

Другие рабочие места характеризовались повышенным по сравнению с контрольным административным рабочим местом значением счетной концентрации наночастиц (табл.1, рис.2). Превышение максимальной счетной концентрации по отношению к контролю составляло на разных рабочих местах от 6 до 42 раз. Наибольшее значение максимальной счетной концентрации, составляющее 42 468 частиц в см³, с размерами частиц в диапазоне 15-20 нм, установлено в воздухе рабочей зоны аппаратчика дозирования в цехе с баней для выпарки аминов из бочек. При этом на указанном рабочем месте было зафиксирована наименьшая из всех рабочих мест концентрация взвешенных веществ, в два раза ниже, чем в административном помещении.

Таким образом, в результате исследований воздуха рабочей зоны горнодобывающего предприятия получены принципиально различные характеристики взвешенных частиц: в подземных условиях труда – сравнительно большое число и массовая концентрация частиц руды с размерами от 0,5 до 3 мкм, счетная концентрация наночастиц не отличается от контроля; над землей:

в процессе флотации – высокая счетная концентрация наночастиц и низкая массовая концентрация взвешенных веществ; в процессе гранулирования – максимальная счетная концентрация наночастиц выше контрольной в 19–26 раз; в процессе перегрузки продукта – максимальная счетная концентрация выше контрольной в 6 раз. Изменение размеров частиц, соответствующих максимумам концентрации, характеризуется небольшим разбросом от размеров частиц в контрольной точке и, возможно, требуется дополнительное микроскопическое исследование для точных выводов о природе и размерах частиц, характеризующих производственные процессы горнодобывающих производств.

На предприятии резинотехнической промышленности исследования воздуха рабочей зоны проводили в подготовительном цехе на рабочих местах машиниста резиносмесителя, вальцовщика резиновых смесей и в цехе формовой техники, в том числе на участке вулканизации – рабочие места вальцовщика резиновых смесей, прессовщика-вулканизаторщика, на участке шероховки – рабочие места машиниста стрейнера, обрезчика резиновых изделий и шероховщика (таб. 2, рис. 3). В качестве сравнения проведено исследова-

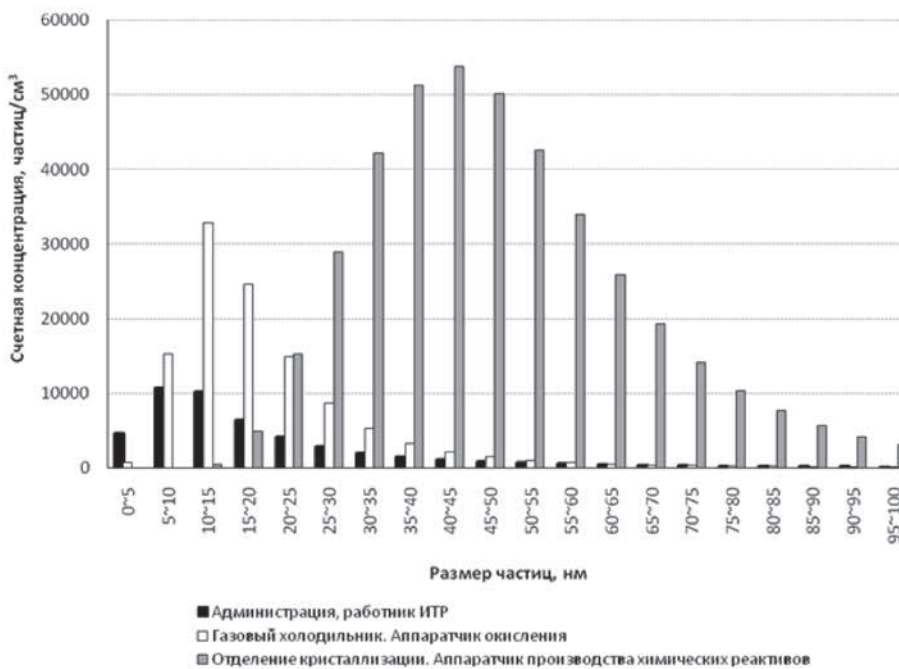


Рис. 4. Спектры распределения частиц по размерам и концентрации в воздухе рабочей зоны на предприятии химической промышленности в отношении с рабочим местом сравнения.

дование воздуха рабочей зоны на рабочем месте административного сотрудника. Производственными факторами, воздействующими на работников и определяющими структуру риска, являются: химический фактор, производственный шум, световая среда, тяжесть и напряжённость трудового процесса. Среди химических соединений на рабочих местах определялись пары предельных углеводородов C_1 - C_{10} , пары акрилонитрила; пылевой фактор представлен в виде присутствия сажи черной промышленной с содержанием бенз(а)пирена не более 35 мг/кг.

По результатам измерений спектра распределения частиц в диапазоне 5–200 нм, наибольшая максимальная счетная концентрация частиц определена на рабочем месте вальцовщика резиновых смесей (подготовительный цех): $3\ 723 \pm 745$ частиц в $см^3$, максимум распределения соответствовал размеру 20-25 нм. Наименьшая счетная концентрация в максимуме распределения определена на рабочем месте шероховщика (цех формовой техники, участок шероховки), значение составило 388 ± 78 частиц в $см^3$, максимум распределения соответствовал размеру 40-45 нм. В основном размеры частиц в максимуме распределения характеризовались величинами от 10 до 30 нм, за исключением описанных выше рабочих мест административного работника и шероховщика, где размеры частиц в максимуме распределения находились в диапазонах 30-45 нм.

Таким образом, воздух рабочей зоны исследованных цехов предприятия резинотехнической

промышленности содержит наночастицы в диапазоне от 5 до 200 нм. Отклонение размеров, соответствующих максимумам распределения, по сравнению с контролем (30-35 нм) составляло от 5 до 20 нм. Аналогично предыдущему предприятию – при концентрации крупной пыли ($PM_{10} - 0,046$ мг/ $м^3$) в процессе шероховки счетная концентрация в максимуме распределения в малой степени отличается от контроля, размер частиц составил более 35 нм. По сравнению с контрольным рабочим местом достоверное превышение счетной концентрации частиц на рабочих местах варьировало от 4 до 11,2 раз.

На предприятии химической промышленности воздух рабочей зоны исследовали в отделениях получения

фталевого ангидрида и фумаровой кислоты. Обследованы рабочие места аппаратчика абсорбции, аппаратчика подготовки сырья и отпуска полуфабрикатов и продукции, аппаратчика окисления, аппаратчика конденсации, аппаратчика чешуирования, аппаратчика производства химических реактивов, аппаратчика осаждения; аппаратчика кристаллизации (табл. 3, рис. 4).

В качестве сравнения проведено исследование воздуха рабочей зоны на рабочем месте инженерно-технического работника (ИТР). Производственными факторами, воздействующими на работников и определяющими структуру риска, наряду с химическими факторами и производственным шумом являются взвешенные вещества.

Химическое производство характеризовалось более высоким уровнем счетной концентрации частиц в максимуме распределения на рабочем месте сравнения 10 683 частиц в $см^3$. При этом на трех из семи рабочих мест на производстве получены более низкие счетные концентрации, что согласуется с высокой влажностью на рабочих местах аппаратчика абсорбции, аппаратчика осаждения, аппаратчика подготовки сырья и отпуска полуфабрикатов и продукции.

Повышенные по сравнению с контролем значения счетной концентрации наночастиц получены на рабочем месте аппаратчика окисления 32 844 частиц в $см^3$, в 3 раза, аппаратчика конденсации 48 544 частиц в $см^3$, в 4,5 раза, аппаратчика производства химических реактивов 53 583 частиц в $см^3$, в 5 раз. Размер частиц, соответствующий

щий максимуму распределения, выше контроля на рабочих местах аппаратчика чешуирования и аппаратчика производства химических реактивов.

В результате выполненных исследований следует отметить, что воздух рабочей зоны аппаратчика производства химических реактивов характеризовался повышением значений как счетной концентрации частиц, так и размера частиц. На рабочем месте аппаратчика конденсации преобладают частицы размера 0-5 нм, что возможно вследствие работы холодильного оборудования.

Заклучение. Таким образом, выполненные исследования могут быть использованы при оценке условий труда и профессионального риска при производственных процессах на производствах наноматериалов, а также производственных процессов с образованием наночастиц. Кроме того, представленные исследования позволяют ставить вопрос о проведении контроля содержания частиц нанодиапазона в воздухе рабочей зоны и разработке нормативов предельно допустимых концентраций для оценки риска здоровью рабочих, профилактике и лечению профессиональных заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Онищенко Г.Г. Организация надзора за оборотом наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека. Гигиена и санитария. 2011; 2: 4-9.
2. Уланова Т.С., Злобина А.В., Шенурова Д.А. Результаты оценки показателей, характеризующих наночастицы в воздухе рабочей зоны титанового производства. Медицина труда и промышленная экология. 2013; 11: 37-41.
3. Уланова Т.С., Антипова М.В.,

- Забирова М.И., Волкова М.В. Определение частиц нанодиапазона в воздухе рабочей зоны металлургического производства. Анализ риска здоровью. 2015; 1: 77-80.
4. Уланова Т.С., Гилева О.В., Волкова М.В. Определение частиц микро- и нанодиапазона в воздухе рабочей зоны на предприятиях горнодобывающей промышленности. Анализ риска здоровью. 2015; 4: 44-48.
5. МУК 4.1.2468-09. Измерение

- массовых концентраций пыли в воздухе рабочей зоны предприятий горнорудной и нерудной промышленности. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.
6. ГОСТ Р 54597-2011/ISO/TR 27628:2007. Воздух рабочей зоны. Ультрадисперсные аэрозоли, аэрозоли наночастиц и наноструктурированных частиц. Определение характеристик и оценка воздействия при вдыхании. М.: Стандартинформ, 2012.

7. ГОСТ Р 8.755-2011. Государственная система обеспечения единства измерений. Дисперсный состав газовых сред. Определение размеров наночастиц методом диффузионной спектрометрии. М.: Стандартинформ, 2012.
8. ГОСТ Р 8.736-2011. Государственная система обеспечения единства измерений. Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения. М.: Стандартинформ, 2013.

REFERENCES:

1. Onishchenko G.G. Organization of supervision over the turnover of nanomaterials posing potential danger for the health of humans. Gigena i sanitarija, 2011; 2: 4-9 (in Russian).
2. Ulanova T.S., Zlobina A.V., Shekurova D.A. Results obtained in evaluation of parameters characterizing nano-particles in air of titanium production workplace. Medicina truda i promyshlennaja ekologija. 2013; 11: 37-41 (in Russian).
3. T.S. Ulanova, M.V. Antipova, M.I.

- Zabirova, M.V. Volkova Determination of nanoscale particles in the air of working zone at the metallurgical production. Analiz riska zdorov'ju. 2015; 1: 77-80 (in Russian).
4. Ulanova T.S., Gileva O.V., Volkova M.V. Determination of micro and nanoparticles in the workplace area at the enterprises of mining industry. Analiz riska zdorov'ju. 2015; 4: 44-48 (in Russian).
5. Methodical guidelines 4.1.2468-09. Measurement of the mass concentrations

- of dust in the air of the working zone of the mining companies and non-metal industry. M.: Federal Center of Hygiene and Epidemiology, 2009 (in Russian).
6. State Standard 54597-2011/ISO/TR 27628:2007. Workplace atmosphere - Ultrafine, nanoparticles and nano-structured aerosols - Inhalation exposure characterization and assessment. Moscow: Standartinform Publ., 2012 (in Russian).
7. State Standard 8.755-2011. State system for ensuring the uniformity of

- measurements. Dispersion content of gas atmospheres. Determination of nanoparticle size by diffusion spectral analysis. Moscow: Standartinform Publ., 2012 (in Russian).
8. State Standard 8.736-2011. State system for ensuring the uniformity of measurements. Multiple direct measurements. Methods of measurement results processing. Main principles. Moscow: Standartinform Publ., 2013 (in Russian).

N.V. Zaitseva¹, T.S. Ulanova^{1,2}, A.V. Zlobina¹, M.V. Volkova^{1,2}, M.I. Gileva¹

INVESTIGATIONS INTO NANOSCALE PARTICLES AS PART OF INDUSTRIAL AEROSOLS AND PARTICULATE MATTER IN THE AIR OF WORKING AREA

¹Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies” of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 614045, Perm, Russian Federation

²Perm National Research Polytechnic University, 614900, Perm, Russian Federation

Results of practical researches in the working area of mining, rubber and chemical industries in respect to the nanoscale particles content are reported. For reference, the air of the workplace of management and white-collar employees not involved in the production process was investigated. Research results are shown in the form of nanoparticles number concentration using peak particle distribution in cm³ and nanosize particles range, which accounts for the peak distribution, nm. For each kind of production jobs with the highest possible characteristics in respect to the workplace to be compared to were set. Investigations reported can be used in assessing working conditions and occupational risks of exposure to nanomaterials in production processes as well as in manufacturing processes to fo..... by nanoparticles formation.

Keywords: *nanoparticles, airborne substances, occupational air, diffusion aerosol spectrometer, nanoscale range, ultrafine particles.*

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

УДК 544.773:546.57:57.044:613.2615.9

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛОСОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ЭКСПОЗИЦИИ: БИОНАКОПЛЕНИЕ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ

*Статья в виде доклада была заслушана на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения".

Н.В. Зайцева^{1,2},
М.А. Землянова¹,
В.Н. Звездин¹,
А.А. Довбыш¹

¹ФБУН ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, 614045, г. Пермь, Российская Федерация
²ГБОУ УВО Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России, 614990, г. Пермь, Российская Федерация

Проведено исследование бионакопления и морфофункциональных нарушений металлосодержащих наночастиц на примере потенциально опасных для здоровья нанодисперсного оксида марганца и никеля при различных условиях экспозиции (размер частиц 15-29 и 17-45 нм соответственно). В качестве сравнения использованы микроразмерные аналоги, размер частиц которых в 300-1300 раз больше. Установлено, что металлосодержащие наночастицы при внутрижелудочной и ингаляционной экспозиции обладают более высокой проникающей способностью и низкой эффективностью выведения из организма (в 14-39 раз); профиль «критических» органов включает головной мозг, печень, селезенку, легкие; обуславливают функциональные нарушения критических систем и органов-мишеней (в виде нарушения баланса показателей окислительно-антиоксидантных процессов и нейромедиаторов при воздействии нанодисперсного MnO), имеющие дозозависимый характер. Большая степень выраженности морфологических изменений в системе кровообращения, макрофагальной и лимфатической системах, а также наличие изменений в ткани печени, головного мозга и сердца, не выявленные при экспозиции микродисперсных аналогов, подтверждают большую повреждающую способность металлосодержащих наночастиц и зависимость степени выраженности патологического процесса от размера частиц.

Ключевые слова: металлосодержащие наночастицы, потенциальная опасность, экспозиция, экспериментальное исследование, бионакопление, морфофункциональные изменения.

Введение. На сегодняшний день отмечается стремительный рост мирового развития и коммерциализации продукции нанотехнологий и нанотехнологий в общей производственной цепочке, относящихся к сегменту рынка новых технологий (6-й технологический уклад) [1]. По данным Экспертов Исследовательской Службы Конгресса США (Congressional Research Service) мировая промышленность использует нанотехнологии в процессе производства как минимум

80 групп потребительских товаров, в том числе электроника, одежда, косметическая продукция, фармпрепараты, продукты питания, бытовая техника (www.nanotechproject.org/inventories/consumer), свыше 600 видов сырьевых материалов, комплектующих изделий и промышленного оборудования. Прогнозируемый объем прорывных направлений на мировом рынке наноразработок составляет 1,5 трлн. долл. к 2020 году. В России, по данным национальной нанотехно-

Зайцева Нина Владимировна (Zaitseva Nina Vladimirovna), доктор медицинских наук, академик РАН, директор ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, znv@fcrisk.ru

Землянова Марина Александровна (Zemlyanova Marina Aleksandrovna), доктор медицинских наук, заведующий отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, zem@fcrisk.ru;

Звездин Василий Николаевич (Zvezdin Vasilii Nikolaevich), кандидат медицинских наук, заведующий отделом гигиены детей и подростков ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, zvezdin@fcrisk.ru;

Довбыш Анастасия Александровна (Dovbysh Anastasia Aleksandrovna), токсиколог лаборатории метаболизма и фармакокинетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь dovnyastja@yandex.ru.

логической сети, перечень производимых наноматериалов включает свыше 200 наименований. По данным Research.Techart, наиболее развитый коммерческий сегмент российской nanoиндустрии – нанопорошки [2].

Значительная доля производства нанотехнологической продукции (наноматериалы, нанoinструменты, наноприборы), нанотехнологий и наноматериалов базируется на использовании металлосодержащих наночастиц. К числу перспективных в этом плане, имеющих широкое приложение в практической деятельности человека, относятся нанодисперсные оксиды никеля, марганца, кобальта (20 % произведенной продукции, относящейся к сфере электроприборостроения, нанооптики, биодиагностики, нанохимии [3, 4]), серебро (до 500 т/год продукции nanoиндустрии фармакологической, медицинской, легкой, химической, пищевой отраслей промышленности [5]).

Интенсивное формирование нанокластеров за рубежом и в РФ, развитие сегментов мирового рынка нанопродуктов в разрезе группы «Наноматериалы», рост коммерческих применений в ключевых отраслях (аэрокосмосе, здравоохранении, биотехнологиях, энергетике, электронике и информационных технологиях, обрабатывающей промышленности, в потребительском секторе [1]) диктует необходимость системного развития работ по изучению потенциальных угроз в сфере жизнедеятельности человека, связанных с широкомасштабным распространением нанотехнологий и нанобиотехнологий. Несмотря на неоспоримые инновационные качества наноматериалы, в том числе металлосодержащие наночастицы, в силу особых физико-химических свойств могут представлять определенную опасность для здоровья человека на всех этапах производства и потребления продукции, для объектов среды обитания и вызывать в будущем серьезные социально-экономические последствия [6]. В связи с этим, исследования, проводимые рядом отечественных научных центров, занимают значимое место по числу работ в этой области [7-10]. Особое внимание уделяется выявлению связи между физическими свойствами (такими, как размер, форма, структура поверхности, степень агрегации) наноматериалов, в том числе металлосодержащих наночастиц, с индукцией токсического ответа в биологических структурах [11-13]. Данное направление на протяжении многих лет активно развивается в ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», в рамках которого выполняется уточнение и систематизация недостаточно изученных физических свойств и особенностей токсического воздействия ряда широко распространенных металлосодержащих наночастиц при ингаляционном и пероральном путях поступления в организм.

Целью исследований являлась токсиколого-гигиеническая оценка бионакопления и морфофункциональных особенностей воздействия некоторых металлосодержащих наночастиц при ингаляционной и пероральной экспозиции.

Материалы и методы исследования

Детальные экспериментальные исследования выполнены на примере частиц нанодисперсного оксида марганца (MnO) и оксида никеля (NiO), предварительная оценка которых по комплексу физико-химических, молекулярно-биологических, биохимических, цитологических, токсикологических характеристик, представленных в аннотируемых источниках литературы и полученных на основании собственных ранее проведенных исследований [10], свидетельствует об их высокой степени потенциальной опасности для здоровья человека с достоверной степенью оценки информации (критерий «частной» опасности $D = 1,8-1,83$ соответствует диапазону 1,78-2,449 – «высокая степень опасности», коэффициент достоверности оценки $U = 0,134$ соответствует 0-0,25 – «достоверный» в соответствии с МР 1.2.2522-09). Преобладающий средний поперечный размер частиц исследуемых образцов (до 95 % от общего количества частиц) в наноразмерной фазе водной суспензии MnO 15-29 нм, NiO – 17-45 нм, что до 1300 и 330 раз меньше размера частиц соответствующих микродисперсных аналогов (рис. 1).

Удельная площадь поверхности ($S_{\text{ВЕТ}}$) наноразмерных частиц, рассчитанная по методу Брунауэра, Эммета и Тейлора [14], MnO $150,2 \pm 2,6$ м²/г (на 20% больше аналогичного показателя у частиц микродисперсного аналога), NiO $120,6 \pm 2,3$ м²/г (в 44,4 раза больше). Тестируемые образцы относятся к нерастворимым в воде соединениям [15]. Адсорбционная емкость частиц 10200,0-10580,0 мг/г (до 30 раз выше адсорбционной емкости микроразмерных аналогов) [16]. Концентрации Mn и Ni в водной суспензии, установленные методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на масс-спектрометре Agilent 7500сх с октопольной реакционной/столкновительной ячейкой (Agilent Technologies Inc, США), составляли $41,37 \pm 2,5$ мг/мл и $50,0 \pm 3,4$ мг/мл (в пересчете на MnO и NiO соответственно).

Исследование функциональных и морфологических изменений выполнено на примере водной суспензии MnO при 90-дневном внутрижелудочном поступлении через зонд в диапазоне доз 1/10-1/500 LD₅₀ на лабораторных животных (крысы самцы и самки линии Wistar массой 200±10 г, n=100, 4 опытных и 1 контрольная группы) в соответствии с ГОСТ 32644-2014 и МУ 1.2.2520-09. Оценка функциональных нарушений выполнена по изменению биохимических показателей функции нейронов ЦНС и баланса окислительно-антиоксидантной системы с использованием

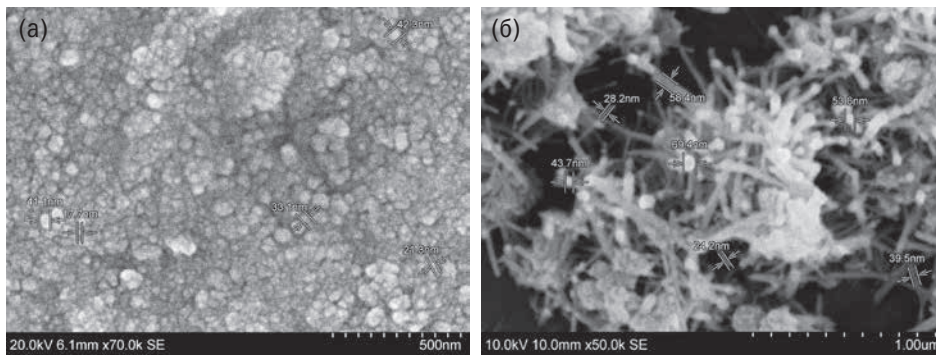


Рис. 1 – Изображение частиц нанодисперсных оксидов металлов с помощью сканирующей электронной микроскопии: а) NiO, б) MnO

автоматического иммуноферментного микропланшетного анализатора Infinite-F50 (Tecan, Австрия). Соотношение основных нейромедиаторов исследовали по содержанию глутамата («возбуждающий» нейромедиатор) и γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) («тормозной» нейромедиатор) в сыворотке крови (наборы реагентов Immundiagnostik, Германия). Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию продуктов ПОЛ – гидроперекиси липидов (набор Biomedica, Словацкая республика) и малонового диальдегида (МДА); антиоксидантной системы – по содержанию Cu/Zn-супероксиддисмутазы (Cu/ZnСОД) (набор eBioscience, Австрия), общего антиоксидантного статуса (ОАС) (набор Immundiagnostik, Германия) в сыворотке крови. Морфологические изменения тканей (головного мозга, сердца, легких, селезенки, печени, почек, желудка и поджелудочной железы, желудка, тонкой и толстой кишки) оценивали при микроскопировании гистологических препаратов (увеличение 10x40), приготовленных в соответствии с принятой технологией на оборудовании Thermo Scientific и Carl Zeiss (Германия).

Исследование и оценка бионакопления (материальной кумуляции) в ткани головного мозга, поч-

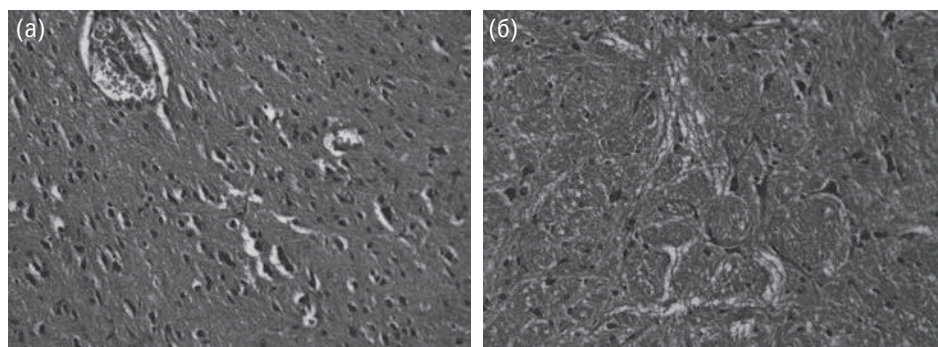


Рис. 2 – Кора больших полушарий крысы при внутрижелудочном введении нанодисперсного MnO в дозе 50 мг/кг массы тела/сутки, 90-й день эксперимента: а – расширенные периваскулярные и перичеселлюлярные пространства в слоях коры головного мозга крысы, б – истончённые нервные волокна в коре больших полушарий крысы. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10x40

ках, печени, легких, крови) и морфологических изменений висцеральных органов (сердца, легких, селезенки, печени, почек, желудка и поджелудочной железы, желудка, тонкой и толстой кишки) выполнена на примере водной суспензии NiO при острой ингаляционной экспозиции (белые мыши самцы и самки линии BALB/C массой 25-30 г, n=30) в соответствии ГОСТ 32646-2014, межгосударственным стандартом (OECD, Test No403:2008, IDT), МУ 1.2.2520-09. Определение концентрации Ni (в пересчете на NiO) в ткани головного мозга, почках, печени, легких, крови выполнено методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7500cx (США). Моделирование ингаляционной экспозиции выполнено в Ингаляционной системе с интегрированным программным обеспечением с использованием камеры для всего тела (TSE Systems GmbH, Германия). Генерирование аэрозоля нанодисперсного NiO осуществляли в заданной концентрации 40 мг/см³. Фактическую концентрацию в воздухе ингаляционной камеры оценивали методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7500cx (США). Отбор проб воздуха в камере выполнен на фильтр АФА-ВГ-10-1 со скоростью 2 л/мин в течение 5 минут через 2 и 4 часа экспозиции, определение концентрации частиц в воздухе камеры – с использованием диффузионного аэрозольного спектрометра (Аэронанотех, Россия).

Исследования и процедуры выполнены согласно руководствам и нормативным документам (ГОСТ З 51000.3-96 и 51000.4-96; Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123); Приказ МЗ РФ № 708 от 23.08.2010. Правила лабораторной практики (GLP)). Животных выводили из эксперимента с соблюдением требований Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1997).

Результаты и обсуждение. Исследование и оценка уровня показателей

Таблица 1

Биохимические показатели функционального состояния окислительно-антиоксидантных процессов и процессов возбуждения и торможения в нейронах ЦНС у крыс линии Wistar при внутрижелудочной экспозиции водной суспензии нанодисперсного MnO

Доза, мг/кг массы тела/ сутки	Показатель (M±m)			
	ОАС (мкмоль/л)	Cu/ZnСОД (нг/мл)	Гидроперекиси липидов (мкмоль/л)	МДА (мкмоль/мл)
30 день				
Исходный уровень показателя	174,1±10,13	5,01±1,01	30,76±2,64	1,62±0,20
Контроль	164,26±8,29	5,20±1,01	32,07±3,04	1,60±0,12
260,0	31,95±3,35*^	1,10±0,04*^	62,21±5,50*^	3,12±0,01*^
50,0	75,36±6,94*^	2,67±0,36*^	48,88±6,07*^	2,74±0,29*^
10,0	68,97±4,73*^	3,67±0,25*^	46,71±5,67*^	2,61±0,34*^
5,0	153,21±5,13	5,12±0,13	33,12±3,03	1,72±0,51
60 день				
Контроль	173,95±4,64	5,28±0,51	32,08±0,19	1,59±0,16
260,0	35,51±4,69*^	2,23±0,25*^	35,34±4,39	3,15±0,22*^
50,0	68,14±12,76*^	3,38±0,32*^	68,23±12,61*^	2,50±0,34*^
10,0	68,87±7,35*^	4,15±0,32*^	91,35±8,24*^	2,34±0,45*^
5,0	164,8±6,20	5,20±1,01	32,07±3,04	1,69±0,15
90 день				
Контроль	163,5±7,3	5,12±0,13	33,12±3,03	1,73±0,19
260,0	31,95±3,35*^	2,05±0,39*^	62,2±9,58*^	3,24±0,29*^
50,0	68,97±6,21*^	4,78±0,27*^	44,86±3,25*^	2,44±0,20*^
10,0	99,42±4,73*^	3,61±0,17*^	46,71±0,22*^	2,25±0,52*^
5,0	157,5±10,9*	5,17±0,13	32,12±2,11	1,75±0,22
	Глутамат (мкмоль/л)		ГАМК (мкмоль/л)	
90 день				
Исходный уровень	242,1±18,2		0,32±0,03	
Контрольная	243,4±33,2		0,31±0,04	
260,0	917,5±117,6*^		0,14±0,02*^	
50,0	607,5±56,7*^		0,12±0,04*^	
10,0	474,8±82,3*^		0,13±0,02*^	
5,0	254,1±12,2		0,30±0,02	

Примечание: *p<0,05 в сравнении со значением уровня показателя перед началом эксперимента
^p<0,05 в сравнении со значением уровня показателя контрольной группы

баланса нейромедиаторов и окислительно-антиоксидантной системы при длительной экспозиции нанодисперсного MnO свидетельствует о наличии функциональных нарушений, имеющих дозозависимый эффект. В дозах 10,0-260,0 мг/кг на 30-й день эксперимента зарегистрировано достоверное повышение в сыворотке крови гидроперекиси липидов и МДА относительно исходного уровня и показателей контрольной группы в 1,4-1,9 и 1,6-2,0 раза соответственно ($p < 0,001$). На 90-й день сохранялся повышенный уровень гидроперекиси липидов и МДА в сыворотке крови, кратность различий с исходным уровнем и показателями в контроле составила 1,3-1,9 раза ($p < 0,001$). В дозе 5,0 мг/кг не установлено достоверных различий показатели с исходным уровнем и с контролем в течение всего эксперимента (табл. 1). Оценка показателей активности антиоксидантной системы свидетельствует, что у крыс в дозах 10,0-260,0 мг/кг регистрируется достоверное снижение уровня Cu/ZnСОД и ОАС в сыворотке крови, имеющее дозозависимый характер. В течение всего эксперимента уровень Cu/ZnСОД зарегистрирован сниженным относительно исходного уровня и контроля в среднем от 1,4 до 4,6 раза ($p < 0,001-0,002$), уровень ОАС в 1,6-5,4 раза ($p < 0,001$). У крыс в дозе 5 мг/кг уровень ОАС не имел достоверных отличий от показателя в контрольной группе в течение всего эксперимента.

Оценка содержания основных нейромедиаторов в сыворотке крови у экспериментальных животных на 90-й день эксперимента показала достоверное повышение глутамата и снижение ГАМК относительно исходного уровня и контроля, при этом изменение показателей имело дозозависимый характер. Повышение уровня глутамата установлено от 2 до 3,8 раза в зависимости от дозы ($p < 0,001$). Снижение ГАМК в сыворотке крови зарегистрировано в 2,3-2,7 раза ($p < 0,001$). У крыс в дозе 5,0 мг/кг достоверного снижения анализируемых показателей в сыворотке крови относительно контроля не установлено.

Установлены морфологические изменения структуры тканей головного мозга, также имеющие зависимость от дозы водной суспензии нанодисперсного MnO. В наибольшей дозе (260 мг/кг массы тела/сутки) в коре больших полушарий и мозжечке выявлено резкое полнокровие сосудов с диapedезом эритроцитов и формированием очаговых субарахноидальные кровоизлияний; отёк головного мозга с расширением периваскулярных и перичеллюлярных пространств; очаги демиелинизации нервных волокон. В дозе 50 мг/кг формируются очаговые расширения периваскулярных и перичеллюлярных пространств в слоях коры головного мозга с сохранением их дифференцировки (рис. 2а). Сосуды вещества

анализируемых тканей тонкостенные, умеренно кровенаполнения, эндотелий уплощен, имеются очаговые мелкие субарахноидальные кровоизлияния и участки очаговой дистрофии нейронов (рис. 2б). В дозе 10 мг/кг массы тела/сутки установлено незначительное расширение периваскулярных пространств (рис. 3а). При экспозиции в дозе 5 мг/кг морфологическая картина тканей головного мозга и мозжечка соответствует контрольной группе (рис. 3б) и характеризуется сохранением рисунка строения во всех отделах.

Большая степень выраженности токсических эффектов подтверждается распространённостью и степенью выраженности патоморфологических изменений тканей внутренних органов при внутрижелудочном введении нанодисперсного MnO в дозе 10 мг/кг в течение 90 дней. Установлены более выраженные изменения в системе кровообращения (в виде гемодинамических расстройств с очаговым слабым и умеренным полнокровием сосудов в головном мозге, печени, легких, почек, сердца; субарахноидальных кровоизлияний в головном мозге), лимфатической (в виде слабо и умеренно выраженных периваскулярных лимфо-макрофагальных инфильтратов в ткани легких с переходом на прилежащие альвеолы) и макрофагальной (в виде активации альвеолярных макрофагов с образованием небольших скоплений в просветах альвеол) системах по сравнению с изменениями при введении микроразмерного аналога (в виде очагового полнокровия сосудов, субарахноидальных кровоизлияний в головном мозге, мелких очаговых лимфо-макрофагальных инфильтратов в легких, желудочно-кишечном тракте). Кроме этого, установлено расширение периваскулярных и перичеллюлярных пространств в головном мозге, слабо выраженный периваскулярный нежноволокнистый кардиосклероз и слабо выраженная очаговая белковая дистрофия гепатоцитов, не установленные при введении микродисперсного аналога.

Исследование проникающей способности нанодисперсного NiO после 4-х часовой ингаляционной экспозиции в виде аэрозоля показало, что нанодисперсный NiO (в фактической концентрации NiO $1,34 \pm 0,07$ мг/дм³ и в абсолютной концентрации частиц 140194 ± 27768 ед./дм³) обладает большей проникающей способностью в 14-39 раз по сравнению с микродисперсным аналогом ($p = 0,0001$) (табл. 2).

Подтверждением меньшей эффективности введения нанодисперсных частиц NiO относительно микродисперсного аналога являются патоморфологические изменения в ткани легких у мышей, проявляющиеся в виде очаговой периваскулярной и перибронхиальной лимфоидной инфильтрации с примесью макрофагов и эозинофилов, не уста-

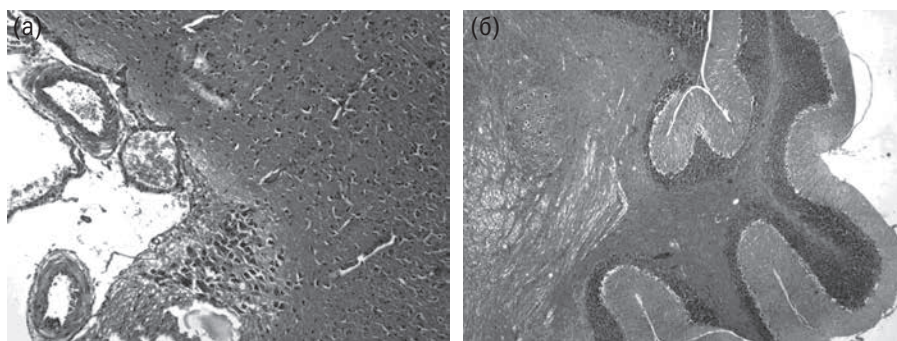


Рис. 3. – 90-й день эксперимента при внутривенном введении нанодисперсного MnO: а – кора больших полушарий крысы, доза 10 мг/кг массы тела /сутки, увеличение 10x10; б – мозжечок крысы, доза 5 мг/кг, увеличение 10x10. Окраска гематоксилин-эозином

новленные в легких при экспозиции микродисперсного NiO (рис. 4). Морфологических изменений ткани головного мозга, селезенки, почек, сердца, печени, поджелудочной железы, желудка, тонкого и толстого кишечника относительно контроля в группах № 1 и № 2 не установлено.

Полученные результаты позволили дать характеристику возможного механизма токсического действия исследуемых металлсодержащих наночастиц. Пусковым механизмом воздействия нанодисперсного MnO при внутривенном введении может являться активация ПОЛ в результате прямого повреждающего действия наночастицами билипидного слоя цитоплазматической мембраны [17]. Данный эффект проявляется на системном уровне увеличением уровня гидроперекисей липидов, МДА, что приводит к снижению активности антиоксидантных процессов [18] (снижение уровня Cu/ZnСОД и ОАС в сыворотке крови). При этом, клетками-мишенями для нанодисперсного MnO при внутривенной и ингаляционной экспозиции являются астроциты и мембраны нейронов [19]. Это может быть обусловлено способностью нанодисперсных частиц MnO, как и других металлов, проникать из желудочно-кишечного тракта в кровь и в последующем – в клетки-мишени. Из кровяного русла нано-

частицы MnO при поступлении через капиллярные эндотелиальные клетки гематоэнцефалического барьера достигают и накапливаются в клетках головного мозга – астроцитах [19]. Поврежденные астроциты могут утрачивать способность захватывать и обезвреживать избыточные количества «возбуждающей» аминокислоты – глутамата, что способствует эксайтотоксическому эффекту (увеличение уровня глутамата и снижение ГАМК в сыворотке крови). Морфологические

изменения тканей головного мозга в виде расширения периваскулярного и перичеллюлярного пространства и демиелинизация нервных волокон в коре больших полушарий подтверждают патогенетическое действие наночастиц MnO, установленное при оценке биохимических показателей. Развитие дегенеративных изменений может быть обусловлено прямым окислительным воздействием наночастиц на нейроны, клетки глии и эндотелий сосудов при непосредственном контакте наночастиц с тканями головного мозга, что свидетельствует о вероятном преодолении гематоэнцефалического барьера.

Характер морфологических изменений в легких, выявленный при острой ингаляционной экспозиции нанодисперсного NiO, подтверждает ранее выявленный эффект, связанный с активацией клеточно-фагоцитарных механизмов защиты [20]. Можно предположить, что наночастицы NiO активно накапливаются в легочной ткани не только благодаря высокой проникающей способности, но и активации фагоцитов, активная миграция которых может обуславливать формирование перибронхиальных инфильтратов. Проникновение наночастиц в кровь непосредственно во время экспозиции может быть обусловлено альвеолярно-капиллярной диффу-

Таблица 2

Сравнительная оценка концентрации NiO в легких и крови экспериментальных животных после 4-часовой ингаляционной экспозиции нано- и микродисперсной суспензии NiO

Группа животных	Концентрация (M±m)		Межгрупповое различие с контролем (p)	
	в легких, мкг/г	в крови, мкг/дм ³		
Группа № 1, экспонирована нанодисперсным NiO	8089,88±3586,9	141,10±33,7	0,0012	0,0001
Группа № 2, экспонирована микродисперсным NiO	206,03±50,95	10,23±1,16	0,0001	0,0001
Группа № 3 (контроль)	30,20±4,58	6,25±0,64	-	-

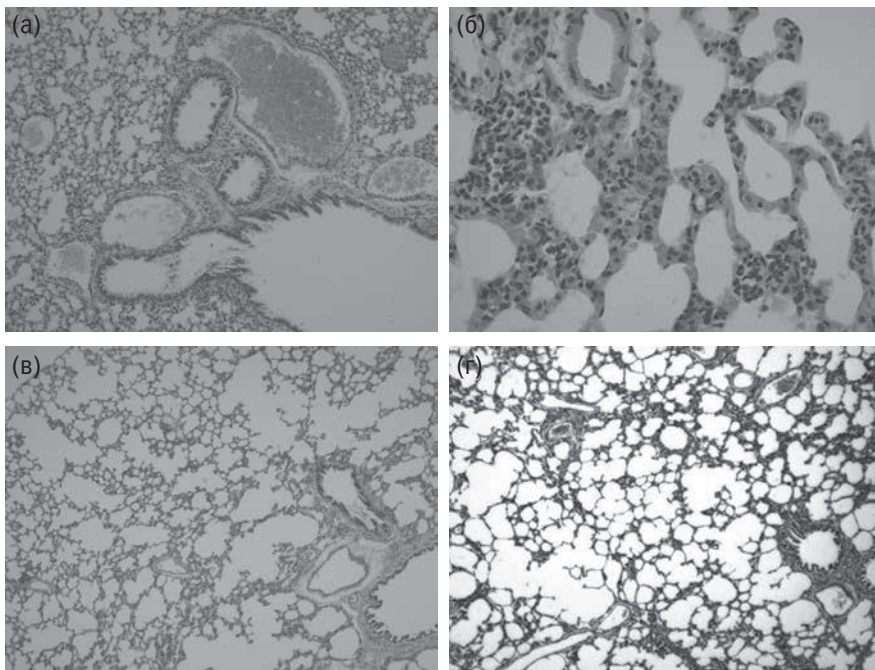


Рис. 4. Бронхи мышей линии BALB/C (окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10×40). Наибольшие морфологические изменения установлены в бронхах мышей опытной группы № 1 (а, б) относительно группы сравнения № 2 (в) и контрольной группы (г). В стенках бронхов (а) наличие перибронхиальных слабо и умеренно выраженных лимфо-эозинофильных инфильтратов. Воспалительный инфильтрат распространяется на прилежащие к бронхам альвеолы (а, б). Визуализируются эозинофилы с ярко розовой цитоплазмой и мультилобулярными базофильными ядрами (б); участки эндоцитоза (а). Стенка бронхов крыс группы сравнения (в) и контрольной группы (г) ровная без утолщений и явлений эндоцитоза, просветы бронхов чистые, контуры сохранены

зией. Дальнейшая миграция частиц может быть обусловлена миграцией фагоцитов из перибронхиальных пространств.

Заключение. Отличительные свойства физических параметров наночастиц (размер, удельная площадь поверхности, адсорбционная емкость, заряд частиц), в том числе металлосодержащих, потенциально увеличивают способность к проникновению через тканевые барьеры, реакционную

способность степени выраженности патологического процесса от размера частиц.

Полученные результаты экспериментальных исследований необходимо учитывать при разработке программ мониторинга и профилактики, направленных на снижение или устранение негативных последствий воздействия металлосодержащих наноматериалов и продукции на здоровье работающих и населения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Результаты анализа наноиндустрии в рамках ТС и ЕЭП (аналитический материал). 2014. Available at: <http://www.nanonewsnet.ru/news/2015/rezultaty-analiza-nanoindustrii-v-ramkakh-ts-eeep> (дата обращения: 15.08.2016).
2. Рынок нанотехнологий в России. 2014. Available at: <http://nanodigest.ru/content/view/574/39> (дата обращения: 15.08.2016).
3. Килимник А.Б., Острожкова Е.Ю. Электрохимический синтез нанодисперсных порошков оксидов металлов. Тамбов: Изд-во ФГБОУ ВПО «ТТУ»; 2012: 144 с.
4. Horie M., Fukui H., Endoh S., Maru J., Miyauchi A., Shichiri M. et al. Comparison of acute oxidative stress on rat lung induced by nano and fine-scale, soluble and insoluble metal oxide particles: NiO and TiO₂. *Inhalation Toxicology*. 2012; 24(7): 391-400.
5. Fabrega J., Luoma S.N., Tyler C.R., Galloway T.S., Lead J.R. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ. Int.* 2011; 37(2): 517-531.
6. Онищенко Г.Г. Стратегия безопасности в наноиндустрии. Здоровье населения и среда обитания. 2011; 5: 4-8.
7. Потапов А.И., Ракитский В.Н., Тулакин А.В., Луценко Л.А., Ильницкая А.В., Егорова А.М. и др. Безопасность наночастиц и наноматериалов для окружающей и производственной среды. Гигиена и санитария. 2013; 3: 8-14.
8. Тутьян В.А., Хотимченко С.А., Гмошинский И.В., Шумакова А.А., Располов Р.В. Комплексная медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов: информационно-аналитическая и экспериментальная составляющие. Здоровье населения и среда обитания. 2011; 5: 15-18.
9. Кацнельсон Б.А., Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Сулункова М.П., Гурвич В.Б., Шур В.Я. и др. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и ее ослабление биопротекторной премедикацией. *Токсикологический вестник*. 2014; 6: 8-14.
10. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Akafieva T.I., Saenko E.V. Acute inhalation toxicity of manganese oxide nanoparticles. *Nanotechnologies in Russia*. 2015; 10(5-6): 468-474.
11. Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Сулункова М.П., Гурвич В.Б., Минигалиева И.А., Логинова Н.В. и др. Основные результаты токсикологических экспериментов «in vivo» с некоторыми металлическими и металлооксидными наночастицами. *Токсикологический вестник*. 2015; 3: 26-38.
12. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Зvezdin V.N., Довбыш А.А., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А. и др. Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра, стабилизированного поливинилпирролидоном, в 92-дневном эксперименте на крысах. II. Морфология внутренних органов. *Вопросы питания*. 2016; 85(1): 47-55.
13. Зибарев Е.В., Чашин М.В., Кузьмин А.В., Никонова С.М., Кусраева З.С. Биомаркеры ингаляционного воздействия наноразмерных аэрозолей. *Здоровье населения и среда обитания*. 2011; 5: 21-23.
14. Грег С., Синг К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость. М: Мир, 1984: 306 с.
15. Nickel (II) oxide nanopowder, <50 nm particle size (TEM), 99.8% trace metals: material safety data sheet (MSDS) (2014). Available at: <http://www.sigmaaldrich>.

com/catalog/product/aldrich/637130?lang=en®ion=RU (дата обращения: 15.08.2016).

16. Li L.H., Xiao J., Liu P., Yang G.W. Super adsorption capability from amorphousization of metal oxide nanoparticles for dye removal. *Scientific Reports*. 2014; 5: 4-9.

REFERENCES:

1. The results of the analysis of the nanotechnology industry in the framework of the Customs Union and the Common Economic Space (analytical data). 2014. Available at: <http://www.nanonewsnet.ru/news/2015/rezultaty-analiza-nanoindustrii-v-ramkakh-ts-ee-p> (Accessed 15 August 2016) (in Russian).
 2. The market of nanotechnologies in Russia. 2014. Available at: <http://nanodigest.ru/content/view/574/39> (Accessed 15 August 2016) (in Russian).
 3. Kilimnik A.B., Ostrozhkova E.Ju. Electrochemical synthesis of nano-dispersed metal oxide powders. *Tambov: IZD-VO FGBOU VPO «TGU»*; 2012: 144 p. (in Russian).
 4. Horie M., Fukui H., Endoh S., Maru J., Miyauchi A., Shichiri M. et al. Comparison of acute oxidative stress on rat lung induced by nano and fine-scale, soluble and insoluble metal oxide particles: NiO and TiO₂. *Inhalation Toxicology*. 2012; 24(7): 391-400.
 5. Fabrega J., Luoma S.N., Tyler C.R., Galloway T.S., Lead J.R. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ. Int.* 2011; 37(2): 517-531.

17. Sárközi L., Horváth E., Kónya Z., Kiricsi I., Szalay B., Vezér T. et al. Subacute intratracheal exposure of rats to manganese nanoparticles: behavioral, electrophysiological, and general toxicological effects. *Inhal Toxicol.* 2009; 21(1): 83-91.
 18. Frick R., Müller-Edenborn B., Schlicker

6. Onishhenko G.G. Security Strategy in the nanotechnology industry. *Zdorov'e naselenija i sreda obitanija*. 2011; 5: 4-8.
 7. Potapov A.I., Rakitskij V.N., Tulakin A.V., Lucenko L.A., Il'nickaja A.V., Egorova A.M. et al. Safety of nanoparticles and nanomaterials for environmental and working environment. *Gigijena i sanitarija*. 2013; 3: 8-14.
 8. Tutel'jan V.A., Hotimchenko S.A., Gmoshinskij I.V., Shumakova A.A., Raspopov R.V. Comprehensive medical and biological safety assessment of nanomaterials: informational, analytical and experimental components. *Zdorov'e naselenija i sreda obitanija*. 2011; 5: 15-18.
 9. Kacnel'son B.A., Minigaliev A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ja. et al. The reaction of the deep airways of rat on a single intratracheal administration of nickel oxide nanoparticles and manganese, or combinations thereof, and its weakening bioprotektornoy premedication. *Toksikologicheskij vestnik*. 2014; 6: 8-14.
 10. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Akafieva T.I., Saenko E.V. Acute inhalation toxicity of manganese oxide

A., Rothen-Rutishauser B., Raemy O.D., Günther D. et al. Comparison of manganese oxide nanoparticles and manganese sulfate with regard to oxidative stress, uptake and apoptosis in alveolar epithelial cells. *Toxicol Lett.* 2011; 205: 163-72.
 19. Diana M. Neurotoxicity of manganese

nanoparticles. *Nanotechnologies in Russia*. 2015; 10(5-6): 468-474.
 11. Kacnel'son B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Minigaliev A., Loginova N.V. et al. The main results of toxicological experiments "in vivo" with some metal and metal oxide nanoparticles. *Toksikologicheskij vestnik*. 2015; 3: 26-38.
 12. Zajceva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Dovbysh A.A., Gmoshinskij I.V., Hotimchenko S.A. et al. Toxicological evaluation of nano-sized colloidal silver stabilized with polyvinylpyrrolidone in a 92-day experiment on rats. II. Morphology viscera. *Voprosy pitanija*. 2016; 85(1): 47-55.
 13. Zibarev E.V., Chashhin M.V., Kuz'min A.V., Nikonova S.M., Kusraeva Z.S. Biomarkers of exposure by inhalation of nanoscale aerosols. *Zdorov'e naselenija i sreda obitanija*. 2011; 5: 21-23.
 14. Greg S., Sing K. Adsorption, the specific surface area, porosity. Moscow: Mir, 1984: 306 c.
 15. Nickel (II) oxide nanopowder, <50 nm particle size (TEM), 99.8% trace metals: material safety data sheet (MSDS). 2014.

oxide nanomaterials. *J. Nanopart.* 2009; 11: 1957-69.
 20. Fröhlich E.L. Cellular Targets and Mechanisms in the Cytotoxic Action of Non-biodegradable Engineered Nanoparticles. *Current Drug Metabolism*. 2015; 9: 976-988.

Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/637130?lang=en®ion=RU> (Accessed 15 August 2016).
 16. Li L.H., Xiao J., Liu P., Yang G.W. Super adsorption capability from amorphousization of metal oxide nanoparticles for dye removal. *Scientific Reports*. 2014; 5: 4-9.
 17. Sárközi L., Horváth E., Kónya Z., Kiricsi I., Szalay B., Vezér T. et al. Subacute intratracheal exposure of rats to manganese nanoparticles: behavioral, electrophysiological, and general toxicological effects. *Inhal Toxicol.* 2009; 21(1): 83-91.
 18. Frick R., Müller-Edenborn B., Schlicker A., Rothen-Rutishauser B., Raemy O.D., Günther D. et al. Comparison of manganese oxide nanoparticles and manganese sulfate with regard to oxidative stress, uptake and apoptosis in alveolar epithelial cells. *Toxicol Lett.* 2011; 205: 163-72.
 19. Diana M. Neurotoxicity of manganese oxide nanomaterials. *J. Nanopart.* 2009; 11: 1957-69.
 20. Fröhlich E.L. Cellular Targets and Mechanisms in the Cytotoxic Action of Non-biodegradable Engineered Nanoparticles. *Current Drug Metabolism*. 2015; 9: 976-988.

N.V. Zaitseva^{1,2}, M.A. Zemlyanova¹, V.N. Zvezdin¹, A.A. Dovbysh¹.

TOXICOLOGICAL AND HYGIENE CHARACTERIZATION OF SOME METAL-CONTAINING NANOPARTICLES AT VARIOUS EXPOSITION METHODS: BIOACCUMULATION AND EXPOSURE MORPHOFUNCTIONAL FEATURES

¹Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 614045 Perm, Russian Federation
²Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, RF Ministry of Health, 614990, Perm, Russian Federation

Bioaccumulation and morphofunctional disorders induced by metal-containing nanoparticles were investigated on the example of potentially hazardous to health nanodispersed manganese and nickel oxides under various exposition conditions (particles size of 15-29 and 17-45 nanometers respectively). As a comparison, micro dimensional analogs which particles size was 300- to 1300- fold bigger were used. It was established that metal-containing nanoparticles at intragastric and inhalation exposure had higher penetration power and low removal efficiency from the organism (14- to 39-fold lower); the profile of "critical" organs includes brain, liver, spleen, lungs; metal-containing NPs cause functional disorders in critical systems and target organs (in the form of disrupted balance in indicators of oxidative and antioxidant processes and neurotransmitters under effect of nano dispersed MnO), these disorders having dose-dependent character. A great degree of expressiveness of morphological changes in the blood circulatory system, macrophagal and lymphoid systems, and also the presence of changes in the tissue of liver, brain and heart not revealed uniuir exposition to microdispersed analogs prove a big damaging ability of metal-containing nanoparticles and dependence of expressiveness degree of pathological process on the size of particles.

Keywords: metal-containing nanoparticles, potential hazard, exposition, experimental study, bioaccumulation, morphofunctional changes.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

УДК 613.31:628.162-078

ЦИТОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА, ИНДУЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА РАЗНЫХ РАЗМЕРОВ НА КУЛЬТУРЕ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

*Статья в виде доклада была заслушана на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения".

Ф.И. Ингель,
Е.К. Кривцова,
Н.А. Юрцева,
О.Н. Савостикова,
А.В. Алексеева

ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им А.Н. Сысина» Минздрава РФ, 119121, Москва, Российская Федерация

Высокая бактерицидная активность наночастиц серебра (НЧС) предполагает возможность их использования при подготовке питьевой воды. В данной работе на лимфоцитах периферической крови человека, культивированных в микроядерном тесте с цитохалазином В, изучены эффекты нестабильности генома в диапазоне концентраций 0,005-5,0 мг/л наночастиц серебра (НЧС) размером $14,3 \pm 0,2$ нм (Ag14) и $100,0 \pm 11,0$ нм (Ag100), стабилизированных арабийской камедью, и - для сравнения - в том же диапазоне концентраций Ag_2SO_4 (ионов серебра). Все вещества суспендированы или растворены в питьевой воде.

Результаты показали, что НЧС обладают генотоксическим и цитотоксическим действием, что делает их непригодными для улучшения качества питьевой воды. Эффекты нестабильности генома, определенные по частоте делящихся клеток с микроядрами и нуклеоплазменными мостами, также как торможение митотической активности и снижение пролиферативной активности и увеличение продолжительности клеточного цикла уменьшались в ряду $Ag_2SO_4 \gg Ag100 \gg Ag14$. Однако повышение частоты асимметричных 3-ядерных клеток, обусловленное индукцией анеуплоидии, оказалось наиболее характерным для частиц Ag14.

Ключевые слова: наночастицы серебра, микроядерный тест с цитохалазином В, клетки крови человека, нестабильность генома, анеуплоидия

Введение. Наночастицы серебра (НЧС) становятся все более востребованными в электронных приборах и биодатчиках, при производстве красителей и тканей для пошива одежды, в пищевой промышленности, при производстве косметики, широкого спектра медицинских изделий [1]. Высокая бактерицидная активность НЧС предполагает широкую перспективу их использования при подготовке питьевой воды [2, 3]. Однако на линиях клеток кожи, печени, легких, мозга, сосудов и половых клеток животных, а также *in vivo* в соответствующих тканях лабораторных грызунов и не-

которых морских организмов были выявлены цитотоксические эффекты, индуцированные НЧС [4, 12]. Поэтому для использования НЧС в водоподготовке должны быть проведены дополнительные исследования.

Считается, что основой цито- и генотоксического действия наночастиц, в том числе, НЧС является эндцитоз, когда НЧС могут терять в виде ионов серебра до 90 % своей массы [1, 12, 13, 14, 15]. На следующих стадиях развития эффектов НЧС выделяют образование свободных радикалов, которые считают основным индуктором дисфункции

Ингель Фаина Исааковна (Ingel Faina Isaakovna), доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории генетического мониторинга ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им А.Н. Сысина» Минздрава РФ, 119121, Москва, fainaingel@mail.ru

Кривцова Елена Константиновна (Krivtsova Elena Konstantinovna), научный сотрудник лаборатории генетического мониторинга ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им А.Н. Сысина» Минздрава РФ, 119121, Москва, e_k_krivtsova@mail.ru;

Юрцева Надежда Александровна (Urtseva Nadejda Aleksandrovna), ведущий инженер лаборатории генетического мониторинга ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им А.Н. Сысина» Минздрава РФ, 119121, Москва, urtseva@mail.ru

Савостикова Ольга Николаевна (Savosticova Olga Nikolaevna), ведущий научный сотрудник лаборатории гигиены питьевого водоснабжения и санитарной охраны водоемов, кандидат медицинских наук ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им А.Н. Сысина» Минздрава РФ, 119121, Москва, savon05@yandex.ru

Алексеева Анна Венедиктовна (Aleksееva Anna Venediktovna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гигиены питьевого водоснабжения и санитарной охраны водоемов ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им А.Н. Сысина» Минздрава РФ, 119121, Москва, al.anna@list.ru

митохондрий и истощения системы синтеза АТФ [12]. При этом особо отмечается, что НЧС – в отличие от других НЧ близкого размера (например, нанозолота) – не обнаруживаются внутри клеточного ядра, что, тем не менее, в эксперименте сочетается с более высокой генотоксической активностью НЧС по сравнению с НЧ золота близких размеров [7].

Среди процессов, происходящих в присутствии НЧС в клеточном ядре, основную роль отводят образованию двунитевых разрывов ДНК и хромосомных перестроек, что сопровождается задержкой клеточного цикла на стадии S/G2 и индукцией апоптоза [1, 7, 8, 12, 16, 17]. Следует отметить, что большинство указанных эффектов обнаружено на перевиваемых клеточных линиях опухолей животных и человека, о которых известно, что их чувствительность к воздействию всегда значительно выше, чем у первичных культур [18, 19, 20]. В то же время, все еще очень мало публикаций об эффектах НЧС *in vivo* и экспериментах на первичных культурах нормальных клеток человека – системе, удобной для скрининга эффектов нестабильности генома [7, 8, 16, 20].

Принимая во внимание принципиальную возможность использования НЧС для улучшения качества питьевой воды и, следовательно, необходимость надежной оценки безопасности НЧС, в том числе – генетической.

Целью настоящей работы является анализ эффектов нестабильности генома, индуцированных НЧС разного размера на первичной культуре крови человека *ex vivo*. Поскольку идеальным инструментом для изучения всего комплекса возможных цитогенетических изменений стабильности генома *in vitro* и *ex vivo* является цитомный анализ в микроядерном тесте на клетках, культивируемых в условиях цитокинетического блока, именно этот подход использован в данной работе [21, 22, 23, 24, 25].

Материалы и методы исследования. Цитомный анализ в микроядерном тесте с цитокинетическим блоком разработан и рекомендован для тестирования на наличие генотоксической активности отдельных химических соединений и их смесей, включая лекарственные препараты [17, 26, 27]. Специальные исследования были предприняты для оценки возможности его применения для НЧ различных материалов [20, 28]. Использование расширенного протокола цитомного анализа, позволяющего определять комплекс основных эффектов нестабильности генома (генетические повреждения, симметрию распределения генетического материала между дочерними ядрами, ускорение либо замедление клеточного цикла, пролиферативную активность и апоптоз) сделало этот тест одним из универсальных инструментов для выявления эффектов нестабильности генома и изучения механизмов их образования [22, 28, 29].

В работе использовали коммерческие препараты сферических частиц серебра типа КНД-С-К размерами $14,3 \pm 0,2$ нм (Ag14) и $100,0 \pm 11,0$ нм (Ag100), стабилизированных аравийской камедью (1:7 по массе). Частицы синтезированы по технологии Multi Mode SPM и предоставлены для экспериментов ООО НПП «Сентоза Факторинг НП» (Россия) [30].

Эффекты НЧС сравнивали с действием сульфата серебра (Ag_2SO_4 , ТУ 6-09-370374), который в использованных концентрациях растворим (растворимость в воде 0,79 г/100 г H_2O при 20°C) и диссоциирован на ионы.

НЧС разного размера и сульфат серебра вносили в стерилизованную кипячением и охлажденную до комнатной температуры дистиллированную воду (ГОСТ 6709-72 «Вода дистиллированная. Технические условия») так, что маточные суспензии содержали 50 мг/л серебра. Их разводили той же водой до концентраций 0,005–5,0 мг/л и использовали в экспериментах. В качестве дополнительного контроля использовали аравийскую камедь в концентрации 5 мг/л, что заведомо превышало ее суммарное содержание в оболочке НЧС при их максимальной концентрации. В экспериментах использовали только свежеприготовленные суспензии и растворы.

Для постановки культур использовали цельную венозную кровь молодого здорового некурящего донора-мужчины. Среду для культивирования клеток готовили, используя собственный подход, разработанный ранее [29]. Цитохалазин В до конечной концентрации 6 мкг/мл вносили в культуру на 44 часу от начала постановки; клетки культивировали 72 часа (37 °C) [23, 24]. Клетки фиксировали смесью метанола и ледяной уксусной кислоты, цитогенетические препараты окрашивали по Гимзе-Романовскому, шифровали и анализировали под микроскопом (10 100, масляная иммерсия) [21, 28, 29]. Для анализа выбирали только те поля зрения, на которых все клетки лежали отдельно, каждая из интерфазных клеток имела четкую цитоплазму и в ней можно было точно определить количество ядер, обнаружить МЯ, НПМ и другие ядерные аномалии. Поля зрения, не соответствовавшие этим критериям, пропускали. Эксперимент повторяли дважды.

Статистический анализ для оценки значимости различий с контролями проводили с использованием критерия X^2 . Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$. Наличие дозовых зависимостей определяли с использованием регрессионного анализа. Статистический анализ проводили с использованием стандартного пакета программ Statistica 10.0 Statsoft.

Результаты и обсуждение. Под нестабильностью генома принято понимать совокупность механизмов и изменений, трансформирующих стабильный геном нормальной клетки в нестабильный, харак-

терный для клеток опухоли [31]. Классический вариант цитомного анализа в микроядерном тесте предусматривает оценку эффектов нестабильности генома по частоте генетических повреждений (МЯ и/или НПМ) только в 2-ядерных клетках, а также разные варианты гибели клеток [20, 23, 24]. Поэтому, прежде всего, мы провели анализ именно 2-ядерных клеток (рис. 1А).

Как видно, в двуядерных клетках значимые генотоксические эффекты наблюдали только при действии высоких концентраций Ag100 и сульфата серебра. При учете повреждений во всех делящихся клетках, генотоксические эффекты также наблюдали только при действии максимальной концентрации Ag100 и 0,05 мг/л сульфата серебра (рис. 1Б).

Поскольку (ср. данные на рис. 1А и 1Б) суммарные частоты делящихся клеток с МЯ и НПМ в наших экспериментах были существенно выше, чем частоты двуядерных клеток с повреждениями для всех видов воздействия (картина, которую неоднократно наблюдали ранее в культурах крови, экспонированных различными веществами, а также при обследовании разных групп населения), мы обоснованно ожидали обнаружить накопление генетических повреждений в клетках, прошедших за время культивирования более одного клеточного цикла (делящихся ускоренно, рис.1В) [22, 32]. Однако среди таких клеток, особенно при малых уровнях экспозиции, мы обнаружили снижение частоты клеток с повреждениями, индуцированных НЧС вне зависимости от размера.

Анализ частот клеток с МЯ и НПМ показал, что сульфат серебра (в нашем случае ионы серебра) во всем диапазоне изученных концентраций не изменяли частоты делящихся клеток с НПМ, в то время как в присутствии Ag14 наблюдалось резкое снижение частоты таких клеток относительно контроля (рис. 2).

В культурах, экспонированных к сульфату серебра, при низких уровнях воздействия доминировали клетки с НПМ, частота которых с увеличением концентрации существенно снижалась. Похожая динамика, но с пиком на концентрации, соответствующей ПДК серебра в воде, наблюдалась для Ag100. В то же время, для Ag14 значимое превышение частоты клеток с НПМ над клетками с МЯ наблюдалось только на высоких концентрациях. Среди клеток второго митоза (преимущественно 4-ядерных) в присутствии сульфата серебра частоты клеток с НПМ превышали частоты клеток с МЯ уже при экспозиции ниже ПДК, а затем этот эффект снижался в динамике, близкой к обнаруженной в 2-ядерных клетках. В присутствии Ag100 наоборот – в пределах ПДК для серебра частоты клеток с МЯ были выше, чем клеток с НПМ, и частота последних доминировала только при более высоких концентрациях. В присутствии Ag14 во всем диапазоне концентраций, за исключением

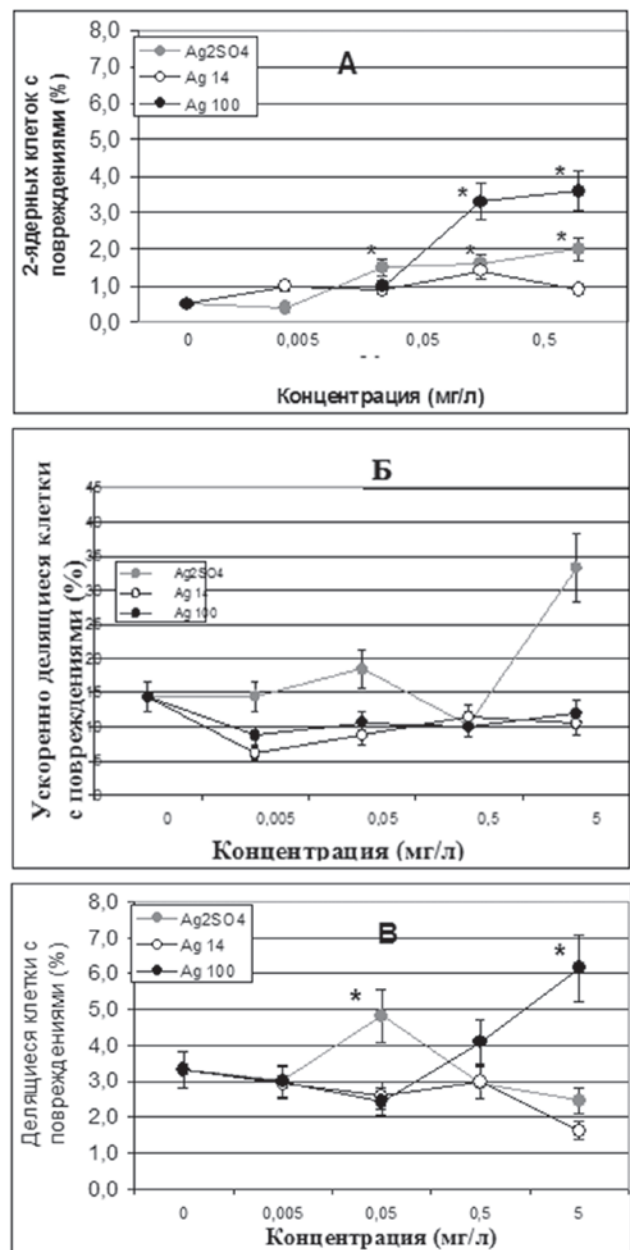


Рис. 1. Частоты разных типов клеток с генетическими повреждениями (микроядрами и нуклеоплазменными мостами): двуядерные клетки (А), ускоренно делящиеся клетки (В), все делящиеся клетки

максимальной, частоты клеток с МЯ были значительно выше частот клеток с НПМ. Учет всех делящихся клеток показал близкую динамику клеток с МЯ и НПМ для сульфата серебра и Ag100, которая качественно отличалась от эффектов Ag14. То есть, по видам индуцированных генетических повреждений, их частотам и динамике действие Ag100 было близко к сульфату (ионам) серебра, но качественно и по тем же параметрам отличалось от эффектов частиц Ag14.

Дозозависимое повышение частоты апоптоза (рис.3) во всем диапазоне изученных концентраций наблюдалось только в двух случаях – под действием сульфата (ионов) серебра и частиц Ag14, причем

эффекты сульфата серебра были существенно более выражены, особенно на высоких концентрациях. Неожиданно, частицы Ag100 дозозависимо повышали частоту апоптоза только в диапазоне концентраций, не превышающих 0,05 мг/л ПДК серебра в питьевой воде. Это означает, что в присутствии более высоких концентраций Ag100 возможно минимум два варианта развития эффектов: увеличение клеточной гибели по механизму некроза (токсическое действие), который трудно учитывать в микроядерном тесте, либо активизацию процессов репарации. В последнем случае должна возникать задержка митоза и связанное с ней снижение митотической и/или пролиферативной активности клеток в культуре. Тогда можно ожидать еще и снижение частоты ускоренно делящихся клеток в спектре клеточных популяций. В другом случае снижение частоты апоптоза может быть обусловлено изменением характера либо сигнала апоптоза, что должно привести к накоплению повреждений в делящихся клетках и также к снижению пролиферативной активности (ср. рис.2).

Результаты цитомного анализа показали, что в присутствии частиц Ag14 даже в максимальной концентрации – и только для этой формы серебра – ни при одной концентрации не наблюдали снижения объема пролиферативного пула (рис.4 левый). При этом частота ускоренно делящихся клеток снижалась только в присутствии максимальной концентрации Ag14. В совокупности это подтверждает реализацию сценария 1.

Для сульфата серебра снижение пролиферативного пула и частота ускоренно делящихся клеток были согласованы с частотой апоптоза, что еще раз доказывает гибель клеток в присутствии высоких концентраций. Влияние высоких концентраций частиц Ag100 на пролиферативную активность проявлялось в динамике, практически аналогичную действию сульфата серебра, что достаточно точно подтверждает развитие событий по сценарию 2 – накопление повреждений в делящихся клетках путем модификации каскада апоптоза и снижения пролиферативной активности.

То есть, частицы разного размера оказывают влияние на пролиферативную активность клеток крови человека по разным механизмам.

Анализ спектра клеточных популяций, образовавшихся в культурах показал, что с увеличением концентрации Ag100 и сульфата серебра в культуре действительно наблюдалось увеличение частоты одноядерных (неделяющихся за время культивирования) и двуядерных (прошедших 1 цикл деления) клеток и снижение частоты клеток, прошедших более одного митотического цикла (рис. 5). Это подтверждает предположение о дозозависимом увеличении продолжительности клеточного цикла в присутствии сульфата серебра и НЧ Ag100. В культурах, экспонированных к Ag14,

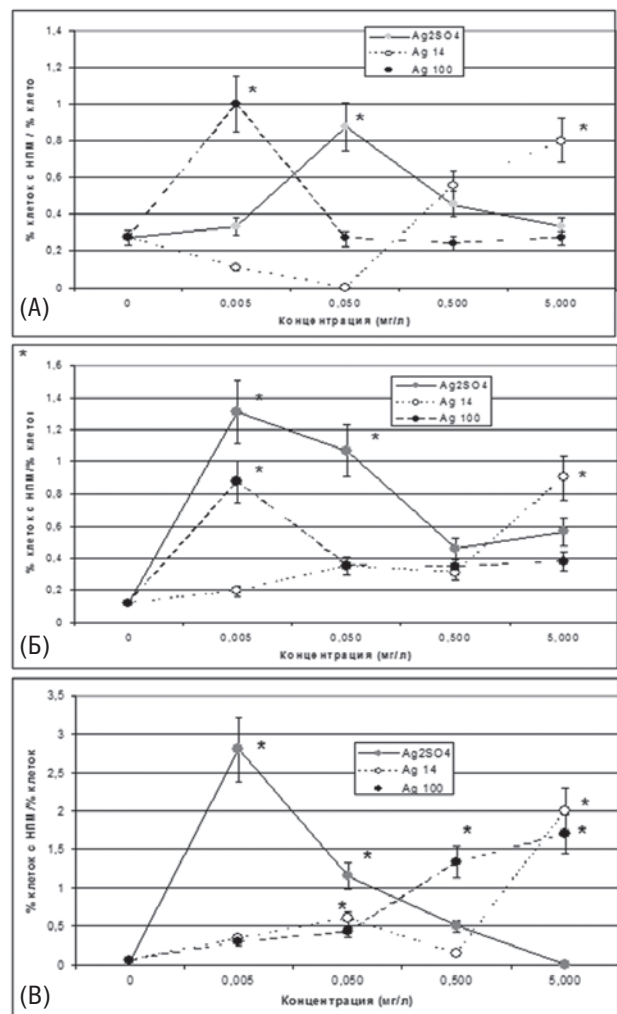


Рис. 2. Соотношение частот основных типов генетических повреждений (микроядер и нуклеоплазмальных мостов) в клетках, прошедших за время культивирования разное количество цикла деления: двуядерные клетки (А), ускоренно делящиеся клетки (Б), все делящихся клетках (В)

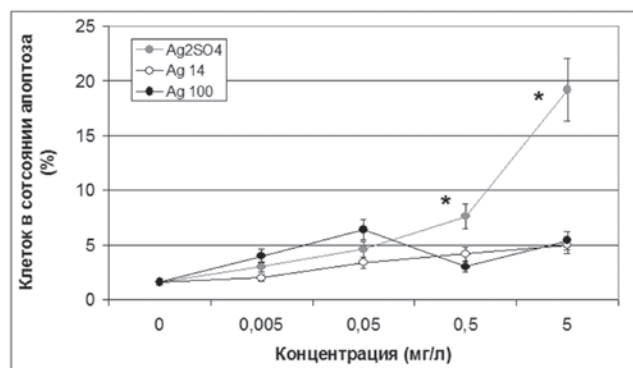


Рис. 3. Частоты апоптоза, индуцированные НЧ разных размеров и сульфатом (ионами) серебра

частота одноядерных клеток с экспозицией не менялась, однако частота ускоренно делящихся клеток, прошедших за время культивирования более 2 циклов деления, существенно не менялась, что говорит о слабом влиянии на продолжительность клеточного цикла.

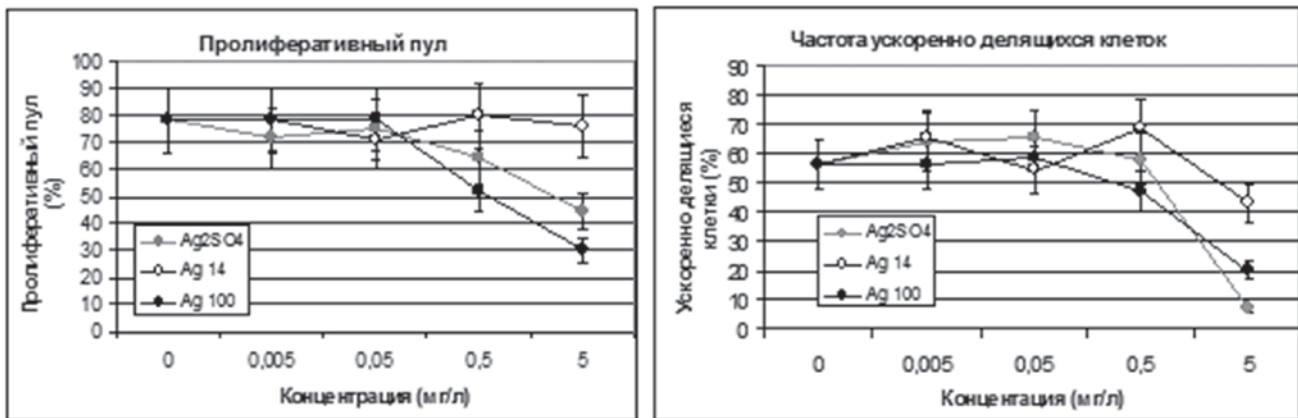


Рис. 4. Динамика пролиферативной активности и частоты ускоренно делящихся клеток в культурах лимфоцитов крови человека, экспонированных к сульфату серебра и наночастицам серебра разных размеров.

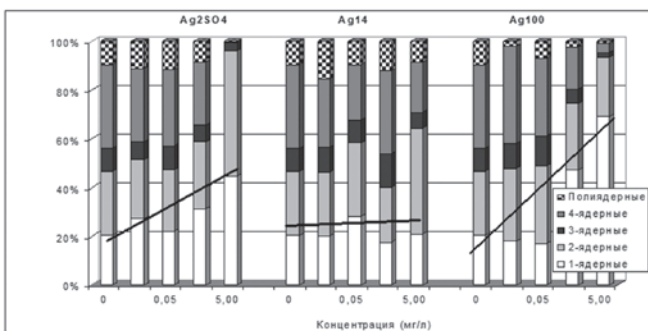


Рис. 5. Спектр клеточных популяций в культурах крови человека, экспонированных к различным концентрациям сульфата (ионов) серебра и наночастицам Ag14 и Ag100.

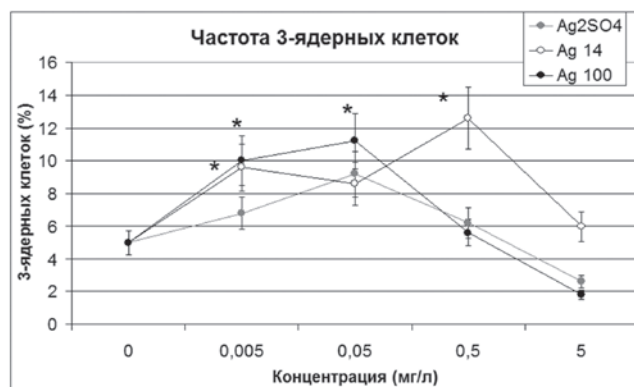


Рис. 6. Динамика образования асимметричных 3-ядерных клеток при экспозиции культур крови человека сульфатом серебра и наночастицами серебра разных размеров.

Анеуплоидия, связанная с нарушениями в механизме распределения хромосом между дочерними клетками, может возникать как в результате мутаций, так и других повреждений ДНК. Анеуплоидия является одним из доказанных механизмов канцерогенеза и стимулятором прогрессии генетических повреждений в ряду клеточных поколений, что делает показатель частоты анеуплоидии одним из ключевых при оценке эффектов нестабильности генома [33]. Расширенный протокол микроядерного теста позволяет надежно оценить уровень анеуплоидии во втором митотическом цикле - когда во время инкубации с цитохалазином В двуядерные клетки делятся еще раз и в норме образуют симметричные 4-ядерные клетки. Параллельно во 2 митозе могут образовываться асимметричные 3-ядерные клетки, которые являются удобным и точным маркером анеуплоидии [21, 22, 28].

На рисунке 6 видно, что значимое повышение частоты 3-ядерных клеток наблюдалось только при экспозиции клеток к двум минимальным концентрациям Ag100, а также во всем диапазоне экспозиции к Ag14, за исключением максимальной концентрации. Снижение частоты 3-ядерных клеток при экспозиции к более высоким концентрациям сульфата серебра и НЧС, вероятнее всего, обусловлено комплексом причин, связанных с индукцией повреждений ДНК, замедлением пролиферации и развитием токсических эффектов или гибелью клеток. Интересно, что и по этому показателю Ag14 отличался и от сульфата серебра, и от наночастиц Ag100, поскольку именно в присутствии Ag14 обнаружена максимальная частота 3-ядерных клеток, причем этот эффект наблюдали даже при очень высокой концентрации, когда в присутствии ионов серебра и частиц Ag100 уже проявлялись токсические эффекты. То есть, в присутствии Ag14 анеуплоидия наблюдалась при максимальной выживаемости клеток. Это означает, что анеуплоидные клетки не погибали, а выживали. Принимая во внимание тот факт, что самые высокие уровни анеуплоидии обнаружены в опухолевых клетках, феномен анеуплоидного действия Ag14, на наш взгляд, во многом определяет высокий канцерогенный потенциал этих частиц.

Следует отметить, что в современных исследованиях анеуплоидия определяется, преимущественно, с использованием fish-окраски, специфичной для определенных хромосом, поэтому для оценки неспецифических анеуплоидий требуется сложный и дорогой полногеномный анализ. Может быть, поэтому анеуплоидия, индуцированная НЧС, была выявлена еще только в одном извест-

ном нам исследования - на клетках *Oryzias latipes* при их инкубации с 0.05 - 0,3 мкг/см² частиц размером 30 нм [34].

Заключение. Обобщая приведенные данные, необходимо, прежде всего, отметить, что все изученные НЧС обладали генотоксическими и цитотоксическими свойствами, что делает их мало пригодными для улучшения качества питьевой воды, хотя частицы Ag14 обладали наименьшей токсичностью из всех изученных соединений.

Кроме того, результаты исследования показали, что все изученные соединения индуцировали эффекты нестабильности генома на культуре лимфоцитов крови человека, причем количественно эти эффекты ослабевали в ряду Ag2SO4>>Ag100>>Ag14. Однако типы генетических повреждений и степень симметрии распределения генетического материала в митозе под действием НЧС разного размера, принципиально различались. Наиболее серьезные эффекты, и, что очень важно, связанные с выживаемостью поврежденных клеток и анеуплоидией, вызывали частицы Ag14. Поэтому частицы Ag14 представ-

ляются более опасными, чем Ag100 и ионы серебра. Таким образом, в данной работе впервые показано, что частицы наносеребра разных размеров индуцируют эффекты нестабильности генома по принципиально разным механизмам, а также различаются по уровню и динамике индукции анеуплоидии и влиянию на выживаемость клеток.

Благодарности. Авторы выражают искреннюю благодарность кандидату медицинских наук, старшему научному сотруднику лаборатории генетического мониторинга ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» Минздрава РФ В.В. Юрченко за внимательный анализ работы и ценные замечания.

Работа выполнена в ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина» МЗ РФ в соответствии с Государственным заданием № 056-00138-16 ПР (Часть 2. Раздел 1. Выполнение фундаментальных научных исследований: «Изучение генотоксического, мутагенного и потенциального канцерогенного действия наноматериалов для минимизации их влияния на здоровье человека»). Государственный регистрационный номер 115072870026.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ahamed M, Alsalmi MS, Siddiqui MK. Silver nanoparticle applications and human health. // Clin Chim Acta. 2010; v.411: 23-24:1841-1848
- De Jong W.H., Borm P.J.A. Drug delivery and nanoparticles: application and hazards // Int J of Nanomedicine, 2008, v.3: 2:133-149
- Мосин О.В., Игнатов И. Методы получения мелкодисперсных наночастиц коллоидного серебра Интернет-журнал «НАУКОВЕДЕНИЕ» Выпуск 3, май – июнь 2014 <http://naukovedenie.ru/85TVN314>
- Xu L, Li X, Takemura T, Hanagata N, Wu G M S V, Chou LL Genotoxicity and molecular response of silver nanoparticle (NP)-based hydrogel. // J Nanobiotechnology. 2012, v.10, № 1:16-18;
- De Lima R, Seabra AB, Durán N. Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. J Appl Toxicol. 2012, Jun 13. doi: 10.1002/jat.2780;
- Lansdown A.B.G. A Pharmacological and Toxicological Profile of Silver as an Antimicrobial Agent in Medical Devices. Review Article // Advances in Pharmacological Sciences, Volume 2010, Article ID 910686, doi:10.1155/2010/910686
- Б.А.Кацнельсон, Л.И.Привалова, М.П.Сутункова, В.Б.Гурвич, И.А.Минигалиева, Н.В.Логнинова, Е.П.Киреева, В.Я.Шур, Е.В.Шишкина, Я.Б.Бейжин, С.В.Пичугова, О.Г.Макеев, И.Е.Валамина. Основные результаты токсикологических экспериментов «in vivo» с некоторыми металлическими и металло-оксидными наночастицами Токсикологический вестник, 2015; 3: 26-40.
- Katsnelson B.A, Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Lognina N.V., Minigaliev I.A., Kireyeva E.P., Shur V.Y., Shishkina E.V., Beikin Y.B., Makeyev O.H., Valamina I.E. Some inferences from in vivo experiments with metal and metal oxide nanoparticles: the pulmonary phagocytosis response, subchronic systemic toxicity and genotoxicity, regulatory proposals, searching for bioprotectors (a self-overview). Int J Nanomedicine. 2015 Apr 16; 10:3013-29. doi: 10.2147/IJN.S80843. eCollection 2015.
- Tomankova K., Horakova J., Harvanova M., Malina L., Soukupova J., Hradilova S., Kejliva Kristina, Malohlava Libor Licman Jakub, Dvorakova Marketa, Jirova Dagmar, Kolarova H. Cytotoxicity, cell uptake and microscopic analysis of titanium dioxide and silver nanoparticles in vitro, Food and Chemical Toxicology (2015), doi: 10.1016/j.fct.2015.03.027
- Thiago Verano-Braga, Rona Miethling-Graff, Katarzyna Wojdyła, Adelina Rogowska-Wrzinska, Jonathan R. Brewer, Helmut Erdmann, and Frank Kjeldsen. Insights into the Cellular Response Triggered by Silver Nanoparticles Using Quantitative Proteomics. ACS NANO. February 2014, www.acsnano.org. DOI: 10.1021/nl4050744
- Hay RT (2005). "SUMO: a history of modification". Mol. Cell 18 (1): 1-12. doi:10.1016/j.molcel.2005.03.012
- AshaRani P. V., Kah Mun Grace Lo †, Hande M. P., Valiyaveetil S. Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells // ACS Nano, 2009, 3 (2), pp 279-290
- Xiu ZM, Zhang QB, Puppala HL, Colvin VL, Alvarez PJ. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. Nano Lett. 2012; 12 (8):4271-5. doi: 10.1021/nl301934w.
- Kittler, S. C. G.; Gebauer, J. S.; Diendorf, J.; Treuel, L.; Ruiz, L.; Gonzalez-Calbet, J. M.; Vallet-Regí, M.; Zellner, R.; Köller, M. Epple, M. The Influence of Proteins on the Dispersability and Cell-Biological Activity of Silver Nanoparticles. J. Mater Chem. 2009, 20:512-518
- Chong-xin Huang, Bo Lv, and Yue Wang. Protein Phosphatase 2A Mediates Oxidative Stress Induced Apoptosis in Osteoblasts Mediators Inflamm. 2015; 804260. 10.1155/2015/804260
- Lim Hui Kheng, Asharani P. V., Prakash Hande M. Enhanced genotoxicity of silver nanoparticles in DNA repair deficient mammalian cells Frontiers in Genetics, 2012, v. 3, p.104. doi: 10.3389/fgene.2012.00104
- Vecchio G, Fenech M, Pompa PP, Voelcker NH. Lab-on-a-chip-based high-throughput screening of the genotoxicity of engineered nanomaterials. Small. 2014; 10 (13):2721-34. doi: 10.1002/smll.201303359.
- Сливак И.М. Действие алкилирующих агентов и ионизирующей радиации на клетки человека с наследственными нарушениями репарации ДНК. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, Санкт-Петербург, 1998; 26.
- McLuckie KI, Crookston RJ, Gaskell M, Farmer PB, Routledge MN, Martin EA, Brown K. Mutation spectra induced by alpha-acetoxymutagen-DNA adducts in human DNA repair proficient and deficient (xeroderma pigmentosum complementation group A) cells // Biochemistry. 2005 v.44., №22, P.8198-8205;19.
- Kroes R, Galli C, Munro I, Schilter B, Tran L, Walker R, Würzten G. Threshold of toxicological concern for chemical substances present in the diet: a practical tool for assessing the need for toxicity testing. Food Chem Toxicol. 2000, v.38, № 2-3:255-312
- Gonzalez L., Sanderson B.J. S. and Kirsch-Volders M. Adaptations of the in vitro MN assay for the genotoxicity assessment of nanomaterials [Journal] / Mutagenesis.- 2011. - 1 : Vol. 26:185-191.
- Ингель Ф.И., Гуськов А.С., Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А. Показатели пролиферативной активности и их связь с генетическими повреждениями лимфоцитов крови при культивировании в условиях цитокинетического блока // Вестник РАМН, 2006; 4: 41-46.
- Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Часть 1. Пролиферация клеток. Экологическая генетика 2006г.Т.IV, №3: 7-19
- Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a "cytome" assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death // MutRes. -2006-. Vol.537, №7:127-132.
- Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M. et al. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures // Mut Res, 2003. Vol. 534, P.65-75.
- Gonzalez L., Sanderson B.J. S. and Kirsch-Volders M. Adaptations of the in vitro MN assay for the genotoxicity assessment of nanomaterials [Journal] / Mutagenesis. - 2011. - 1 : Vol. 26:185-191.
- Statement on genotoxicity assessment of nanomaterials* and experimental considerations by committee on mutagenicity of chemicals in food, consumer products and the environment (com) http://www.iacom.org.uk/statements/documents/nanomaterialsfinal2012_000.pdf
- OECD guideline for the testing of chemicals. Proposal for updating Test Guideline 487. In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/50108793.pdf>
- Мошков Н.Е., Ингель Ф.И., Кривцов Г.Г. Морфометрия клеточных ядер для скрининга эффектов нестабильности генома в микроядерном тесте на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока // Нанотехнологии и охрана здоровья, 2012, Том IV, № 1 (10):24-32
- Ingel F., Zetsepina O., Stekhin A., Yakovleva G., Savostikova O., Alekseeva A., Iksanova T. Electrochemically activated water induced effects of genomic instability in various living objects in vitro and in vivo. Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine 2013, Vol. 1, Iss.7, 1:143 [http://dx.doi.org/10.4172/2329-6879.1000143](http://esciencecentral.org/journals/electrochemically-activated-tap-water-induced-effects-of-genomic-instability-in-various-living-objects-in-vitro-and-in-vivo-2329-6879.1000143.php?aid=23292)
- Кошелев К.К., Кошелева О.К., Паутов В.Л., Горовенко В.И., Сивистунов М.Г. Препараты коллоидных металлов КНД-М для медицины. Нанотехнология и охрана здоровья, 2010; 2: 36-38.
- Smith LE, Nagar S, Kim GJ, Morgan WF. Radiation-induced genomic instability: radiation quality and dose response. Health Phys. 2003, Jul; 85(1):23-29.
- Titenko-Holland N., Jacob R. A., Shang N., Balaraman A., Smith M. T. Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate. Mutat. Res., 1998. v. 417, N 2 - 3:101 - 114.
- Тимошевский В.А., Назаренко С.А. Биологическая индикация мутагенных воздействий и генетической нестабильности у человека путем учета числовых хромосомных нарушений. Вестник ВОГиС, 2006; 10 (3): 530-540.
- Wise JP Sr, Goodale BC, Wise SS, Craig GA, Pongang AF, Walter RB, Thompson WD, Ng AK, Aboueiisa AM, Mitani H, Spalding MJ, Mason MD. Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells. Aquat Toxicol. 2010, v.97, № 1:34-41

REFERENCES:

- Ahamed M., Alsali M.S., Siddiqui M.K. Silver nanoparticle applications and human health. // Clin Chim Acta. 2010, v.411, № 23-24:1841-1848
- De Jong W.H., Borm P.J.A. Drug delivery and nanoparticles: application and hazards // Int J of Nanomedicine, 2008, v.3, № 2:133-149
- Mosin O. V., Ignatov A. Methods of receiving fine nanoparticles of colloidal silver the Internet magazine "NAUKOVEDENIYE" Release 3, May - June 2014 <http://naukovedenie.ru> 85TVN314
- Xu L., Li X., Takemura T., Hanagata N., Wu G M S V, Chou LL. Genotoxicity and molecular response of silver nanoparticle (NP)-based hydrogel. // J Nanobiotechnology, 2012, v.10, № 1:16-18;
- de Lima R, Seabra AB, Durán N. Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. J Appl Toxicol. 2012, Jun 13. doi: 10.1002/jat.2780;
- Lansdown A.B.G. A Pharmacological and Toxicological Profile of Silver as an Antimicrobial Agent in Medical Devices. Review Article // Advances in Pharmacological Sciences, Volume 2010, Article ID 910686, doi:10.1155/2010/910686
- Katsnelson B. A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V. B., Minigaliyeva I.A., Loginova N. V., Kireev E.P., Schur W. Ja., Shishkina E.V., Beykin Ya.B., Pichugova S.V., Makeev O. G., Valamina I.E. The main results of toxicological experiments "in vivo" with some metal - oxidic nanoparticles. Toxicological vestnik, 2015 No. 3, S.26-40.
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Loginova N.V., Minigaliyeva I.A., Kireyeva E.P., Shur V.Y., Shishkina E.V., Beikin Y.B., Makeyev O.H., Valamina I.E. Some inferences from in vivo experiments with metal and metal oxide nanoparticles: the pulmonary phagocytosis response, subchronic systemic toxicity and genotoxicity, regulatory proposals, searching for bioprotectors (a self-overview). Int J Nanomedicine. 2015 Apr 16; 10:3013-29. doi: 10.2147/IJN.S80843. eCollection 2015.
- Tomankova K., Horakova J., Harvanova M., Malina L., Soukupova J., Hradilova S., Kejllova Kristina, Malohlava Libor Licman Jakub, Dvorakova Marketa, Jirova Dagmar, Kolarova H. Cytotoxicity, cell uptake and microscopic analysis of titanium dioxide and silver nanoparticles in vitro, Food and Chemical Toxicology (2015), doi: 10.1016/j.fct.2015.03.027
- Thiago Verano-Braga, Rona Miethling-Graff, Katarzyna Wojdyla, Adelina Rogowska-Wzesinska, Jonathan R. Brewer, Helmut Erdmann, and Frank Kjeldsen. Insights into the Cellular Response Triggered by Silver Nanoparticles Using Quantitative Proteomics. ACS NANO, February 2014, www.acsnano.org. DOI: 10.1021/nn4050744
- Hay RT (2005). "SUMO: a history of modification". Mol. Cell 18 (1): 1-12. doi:10.1016/j.molcel.2005.03.012
- AshaRani P. V., Kah Mun Grace Low †, Hande M. P., Vallyaveetil S. Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells // ACS Nano, 2009, 3 (2), pp 279-290
- Xiu ZM, Zhang QB, Puppala H.L, Colvin VL, Alvarez PJ. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. Nano Lett. 2012; 12 (8):4271-5. doi: 10.1021/nl301934w.
- Kittler, S. C. G.; Gebauer, J. S.; Diendorf, J.; Treuel, L.; Ruiz, L.; Gonzalez-Calbet, J. M.; Vallet-Regi, M.; Zellner, R.; Köller, M. Epple, M. The Influence of Proteins on the Dispersability and Cell-Biological Activity of Silver Nanoparticles. J. Mater Chem. 2009, 20:512-518
- Chong-xin Huang, Bo Lv, and Yue Wang. Protein Phosphatase 2A Mediates Oxidative Stress Induced Apoptosis in Osteoblasts Mediators Inflamm. 2015; 2015: 804260. 10.1155/2015/804260
- Lim Hui Kheng, Asharani P. V., Prakash Hande M. Enhanced genotoxicity of silver nanoparticles in DNA repair deficient mammalian cells Frontiers in Genetics, 2012, v. 3, p.104. doi: 10.3389/fgene.2012.00104
- Vecchio G, Fenech M, Pompa PP, Voelcker NH. Lab-on-a-chip-based high-throughput screening of the genotoxicity of engineered nanomaterials. Small. 2014; 10 (13):2721-34. doi: 10.1002/smll.201303359.
- Spivak I.M. Action of the alkylating agents and ionizing radiation on human cells with hereditary violations of DNA repair. Abstract of the thesis for degree of Candidate of Biology, St. Petersburg, 1998, S.26.
- McLuckie KI, Crookston RJ, Gaskell M, Farmer PB, Routledge MN, Martin EA, Brown K. Mutation spectra induced by alpha-acetyltamoxifen-DNA adducts in human DNA repair proficient and deficient (xeroderma pigmentosum complementation group A) cells // Biochemistry. 2005 v.44, № 22, P.8198-8205; 19.
- Kroes R, Galli C, Munro I, Schilter B, Tran L, Walker R, Würzten G. Threshold of toxicological concern for chemical substances present in the diet: a practical tool for assessing the need for toxicity testing. Food Chem Toxicol. 2000, v.38, № 2-3:255-312
- Gonzalez L., Sanderson B.J. S. and Kirsch-Volders M. Adaptations of the in vitro MN assay for the genotoxicity assessment of nanomaterials [Journal] / Mutagenesis - 2011. - 1. Vol. 26:185-191.
- Ingel F.I., Guskov A.S., Yurchenko V. V., Krivtsov E.K., Yurtseva N. A. Indicators of proliferative activity and their correlations with genetic damages of lymphocytes of human blood cultivated in cytokinetic block // the Bulletin of the Russian Academy of Medical Science, 2006, No. 4:41-46.
- Ingel F.I. Prospects of use of micronuclear test on human blood lymphocytes cultivated using cytokinetic block. Part 1. Proliferation of cages. Ecological genetics 2006, v. IV, No. 3: 7-19
- Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a "cytome" assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death // MutRes. - 2006.-Vol.537, №7:127-132.
- Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M. et al. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures // Mut Res, 2003. Vol. 534, P.65-75.
- Gonzalez L., Sanderson B.J. S. and Kirsch-Volders M. Adaptations of the in vitro MN assay for the genotoxicity assessment of nanomaterials [Journal] / Mutagenesis. - 2011. - 1. Vol. 26:185-191.
- Statement on genotoxicity assessment of nanomaterials* and experimental considerations by committee on mutagenicity of chemicals in food, consumer products and the environment (com) http://www.iaom.org.uk/statements/documents/nanomaterialsfinal2012_000.pdf
- OECD guideline for the testing of chemicals. Proposal for updating Test Guideline 487. In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/50108793.pdf>
- Moshkov N. E., Ingel F. I., Krivtsov G. G. A morphometry of cellular nuclei for screening of the effects of genomic instability in micronuclear test on human blood lymphocytes cultivated in cytokinetic block // Nanotechnology and health protection, 2012, v. IV, No. 1 (10):24-32
- Ingel F., Zatepina O., Stekhin A., Yakovleva G., Savostikova O., Alekseeva A., Iksanova T. Electrochemically activated water induced effects of genomic instability in various living objects in vitro and in vivo. Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine 2013, Vol. 1, Iss. 7, 1:143 [http://dx.doi.org/10.4172/2329-6879.1000143](http://esciencecentral.org/journals/electrochemically-activated-tap-water-induced-effects-of-genomic-instability-in-various-living-objects-in-vitro-and-in-vivo-2329-6879.1000143.php?aid=23292)
- Koshelev K.K., Kosheleva O.K., Pautov V.P., Gorovenko V. I., Svistunov M. G. Preparations of the KND-M colloidal metals for medicine. Nanotechnology and health protection, 2010, No. 2, S.36-38
- Smith LE, Nagar S, Kim GJ, Morgan WF. Radiation-induced genomic instability: radiation quality and dose response. Health Phys. 2003, Jul; 85 (1):23-29.
- Titenko-Holland N., Jacob R. A., Shang N., Balaraman A., Smith M. T. Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate. Mutat. Res., 1998. v. 417, N 2 - 3:101 - 114.
- Timoshevsky VA., Nazarenko S. A. Biologic indication of mutagenic influences and human genetic instability by the accounting of numerical chromosomal violations. Vestnic VOGIS, 2006, T.10, No. 3, S.530-540.
- Wise JP Sr, Goodale BC, Wise SS, Craig GA, Pongan AF, Walter RB, Thompson WD, Ng AK, Aboueiassa AM, Mitani H, Spalding MJ, Mason MD. Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells. Aquat Toxicol. 2010, v.97, № 1:34-41. Healthcare of Russia, 119121, Moscow, Russian Federation

F.I. Ingel, E.K. Krivtsova, N.A. Yurtseva, O.N. Savostikiva, A.V. Alekseeva.

CYTOME ANALYSIS OF EFFECTS OF GENOMIC INSTABILITY INDUCED BY DIFFERENTLY SIZED SILVER NANOPARTICLES IN HUMAN WHOLE BLOOD CULTURE

A.N. Sysin Research Institute of Human Ecology and Environmental Health, of Ministry of Health of Russia, 119121, Moscow, Russian Federation

A high bactericidal activity of silver nanoparticles (NHS) suggests the possibility of their use in the preparation of drinking water. On the example of human peripheral blood lymphocytes cultured in micronucleus test with cytochalasin B, effects of genome instability were investigated in a concentration range of 0.005-5.0 mg / l of silver nanoparticles (NHS) with a size of 14.3 ± 0.2 nm (Ag14) and 100.0 ± 11.0 nm (AG100), stabilized with gum acacia and for comparison, those of Ag_2SO_4 (silver ions), in the same range of concentrations. All substances were suspended or dissolved in drinking water. The results showed that the NP_5 had genotoxic and cytotoxic effects that made them unsuitable to improve the quality of drinking water. Effects of genome instability determined by the frequency of dividing cells with micronuclei and nucleoplasmic bridges, as well as inhibition of mitotic activity, decrease of proliferative activity and increasing duration of the cell cycle came down in series of $\text{Ag}_2\text{SO}_4 \gg \text{Ag}100 \gg \text{Ag}14$. However, frequency rise of asymmetric 3-nucleated cells due to aneuploidy induction was the most characteristic of Ag14 particles.

Key words: silver nanoparticles, micronucleus test with cytochalasin B, human blood cells, genome instability, aneuploidy.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

УДК 611.811 : 615.099.036.11

АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ГРЫЗУНОВ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ПОСТУПЛЕНИИ СМЕШАННОГО ОКСИДА ОБЕДНЕННОГО УРАНА С ВОДОЙ

Д.В. Герасимов

ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Минздрава России», 119991, г. Москва, Российская Федерация

Приведен эксперимент по исследованию поведенческих реакций экспериментальных животных с использованием стандартных методик после однократного перорального поступления водного раствора смешанного оксида обеднённого урана. Экспериментальное исследование свидетельствует о выраженном расстройстве интегративных функций головного мозга грызунов, связанном с воздействием соединений урана на структуры, обеспечивающие координацию двигательных актов, условно-рефлекторную деятельность, а также тревожно-фобическое и эмоциональное состояние животных. Временные нейротоксические эффекты обеднённого урана могут быть результатом, как прямой оксидантной активности соединений урана в отношении нейронов, так и следствием их влияния на метаболизм нейротрансмиттеров.

Ключевые слова: обеднённый уран, инкорпорация, головной мозг, поведенческие реакции.

Введение. В последнее время все большее внимание ученых привлекает защита природной среды и человека от токсических эффектов радиоактивных материалов при их утилизации [1,2,3]. Одним из наиболее экономически целесообразных способов использования отходов атомной энергетики, а именно обеднённого урана (ОУ), является его применение при производстве бронепробойных снарядов. Учитывая физико-химические характеристики урана, вот уже более 20 лет развитые страны используют средства поражения с ударниками из ОУ для решения боевых задач в локальных войнах (Ирак, 1991, 2003 гг.; Босния и Герцеговина, 1994–1995 гг.; Косово и Метохия, 1999 г.; Афганистан, 2001–2003 гг.; Ливия, 2011 г., Сирия 2014–2016 гг.) [1,2,4].

Подрыв боеприпасов, содержащих ОУ, способствует накоплению значительного количества соединений урана в объектах окружающей среды, в том числе в естественных и искусственных открытых водоёмах. Использование воды из таких водоёмов для питьевых и хозяйственно-бытовых нужд, особенно вследствие военных действий и разрушения коммуникаций, производится без предварительной обработки.

Таким образом, соединения урана, сравнительно быстро перемещаясь по пищевым цепям, могут существенно повышать риск токсических эффектов в организме человека [1,2,3].

Через некоторое время после завершения боевых действий на территории разных стран и в разные годы появились сообщения о схожих признаках «непонятной болезни» и развитии радиационно-индуцированной патологии, как у участников боевых действий, так и у мирного населения, проживающего на этих территориях. Эти состояния, впоследствии получившие названия «Синдром войны в заливе» и «Балканский синдром», объясняли боевым стрессом, сменой диеты и климата, токсическим дымом пожаров на нефтяных скважинах, инфекционными болезнями, последствием вакцинации, а также воздействием различных нейротоксичных веществ, в том числе, ОУ [4,5]. До сих пор нет четкого понимания медико-биологической природы этого «особого синдрома». С данным синдромом ассоциируются психологические и физикальные симптомы – хроническая усталость, боль в мышцах и суставах, электрофизиологические и неврологические

Герасимов Денис Владимирович (Gerasimov Denis Vladimirovich), к.м.н., доцент отдела военной токсикологии и медицинской защиты Учебного военного центра ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Минздрава России», 119991, г. Москва, degerasimov@yandex.ru

нарушения, соматоформные и поведенческие расстройства, а также отклонения в деятельности дыхательной, пищеварительной и других систем.

Целью настоящей работы являлось исследование возможных реакций нервной системы при однократном поступлении смешанного оксида обедненного урана с водой в аспекте поведенческих реакций лабораторных животных (крыс).

Материалы и методы исследования. По литературным данным пероральное поступление ОУ из объектов окружающей среды с пищей и водой, исключая ингаляционное поступление, на территориях боевых действий могло составить 36–100 мг/человека (75 кг) [2]. В связи с этим был сделан расчет средней дозы смешанного ок-

сида обедненного урана для однократного перорального введения крысам с водой (1 мг/кг).

Учитывая, возможность накопления соединений урана в различных структурах головного мозга (стриатуме, гиппокампе, коре больших полушарий, таламусе, среднем мозге, мозжечке и др.) [6,7,8,9,10], можно предположить, что комплекс токсических эффектов смешанного оксида обеднённого урана существенно изменяет психоневрологический статус биообъекта. Поэтому целесообразно оценить поведенческие реакции экспериментальных животных на уровне рефлексов и инстинктов, как маркер функционального состояния ЦНС.

В эксперименте 120 половозрелым крысам-самцам однократно перорально вводили

Таблица 1

Поведение животных в тесте «открытое поле»

показатель	группы	Срок исследования							
		7 сут		30 сут		90 сут		180 сут	
		$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p
горизонтальные локомоции	К	32,9±14,0	0,549	22,1±9,8	0,034	21,9±9,9	0,156	11,4±5,5	0,420
	О	29,9±13,1		31,1±12,3		27,3±8,3		13,7±4,1	
обнюхивание	К	24,9±6,9	0,390	21,8±4,0	0,033	18,6±5,7	0,655	15,1±3,9	0,151
	О	27,3±8,5		26,7±6,0		19,5±4,7		12,8±4,4	
вертикальная стойка	К	10,2±4,3	0,920	12,7±4,8	0,782	12,1±5,1	0,746	8,0±3,7	0,905
	О	10,4±4,4		12,1±5,2		11,4±4,0		8,3±3,2	
груминг (умывание)	К	3,7±1,4	0,811	0,7±0,2	0,571	2,3±1,1	0,282	1,1±0,4	0,388
	О	4,0±1,7		1,0±0,4		2,9±1,1		1,7±0,8	
замирание неподвижность	К	5,2±1,5	0,176	4,1±1,6	0,511	3,6±1,4	0,105	2,5±0,9	0,161
	О	6,6±2,9		4,5±1,6		4,5±1,2		3,3±1,1	
поворот на месте	К	9,9±3,0	0,406	9,9±3,4	0,184	9,5±2,6	0,368	6,4±2,4	0,652
	О	10,9±3,5		8,1±3,5		8,5±3,7		6,9±3,2	
эмоции (каловые болюсы)	К	2,5±1,1	0,120	2,5±1,1	0,138	2,3±1,0	0,218	2,6±1,2	0,802
	О	3,9±1,7		1,3±0,5		3,5±1,2		2,8±1,1	

Примечание: К – контрольная группа, О – опытная группа.

водный раствор смешанного оксида обедненно-го урана ($U_3O_8+UO_2$) из расчета 1 мг/кг массы тела, причём опытными группам соответствовал адекватный биологический контроль.

Учитывая токсикокинетику соединений урана в организме [3], через 7, 30, 90 и 180 суток после введения ОУ проводились исследования поведенческих актов экспериментальных животных с использованием стандартных методов: тест «Открытое поле» - для оценки двигательных и ориентировочно-исследовательских реакций, тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» («ПКЛ»), характеризующий уровень тревожно-фобического и эмоционального состояния животных и тест «Условный рефлекс пассивного избегания» («УРПИ»), оценивающий условно-рефлекторную деятельность животных [11].

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием параметрических критериев пакетов программ Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0 в операционной среде Windows 7. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение. В последнее время опубликован ряд работ, в которых кроме об-

щезвестных эффектов ОУ в органах-мишенях (почки, печень, костная ткань), описана нейротоксичность соединений урана [7,8,10,12,13,14].

Результаты собственного исследования поведения животных свидетельствовали, что по истечению 7 суток после введения ОУ ни один из оцениваемых показателей всех применяемых методик у животных опытной группы не обладал достоверным отличием от показателей группы биологического контроля ($p > 0,05$).

Через 30 суток после начала эксперимента было выявлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение двигательной активности на 40,9% и исследовательского поведения на 22,7% у животных опытной группы в тесте «открытое поле» (табл.1). Эти изменения свидетельствуют о воздействии ОУ на структуры ЦНС ответственные за реализацию афферентной регуляции экстрапиримидной системы, обеспечивающей координацию немотивированных двигательных функций и осуществление автоматических двигательных актов (мозжечок и др.). Также отмечалось повышение эмоциональной тревожности животных опытной группы на 32,4% в тесте «ПКЛ» (табл. 2) и нарушение процессов запоминания

Таблица 2

Поведение животных в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

показатель	группы	Срок исследования							
		7 сут		30 сут		90 сут		180 сут	
		$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p
общее время на свету (сек)	К	56,9±18,0	0,519	50,8±9,8	0,041	27,3±8,3	0,166	28,2±8,6	0,460
	О	43,0±13,9		34,1±12,6		39,1±11,6		23,7±9,1	
время захода в тёмный рукав (сек)	К	9,1±4,1	0,922	8,0±3,8	0,282	5,0±1,6	0,001	11,4±4,0	0,705
	О	10,2±4,3		13,1±5,2		11,2±4,0		12,1±5,1	
свешивания с открытых рукавов (кол-во)	К	3,7±1,8	0,822	4,1±1,6	0,105	1,0±0,4	0,0009	1,1±0,4	0,488
	О	4,1±1,7		3,2±1,4		5,2±1,5		0,9±0,3	
выходы на свет (кол-во)	К	3,9±1,6	0,376	4,0±1,4	0,111	2,3±1,1	0,171	1,3±0,6	0,651
	О	3,1±1,5		1,3±0,5		3,3±1,1		1,2±0,7	
переходы между рукавами (кол-во)	К	3,2±1,2	0,406	2,9±1,3	0,471	1,2±0,7	0,282	0,9±0,6	0,562
	О	2,8±1,1		2,3±1,0		2,9±1,1		1,1±0,8	

Примечание: К - контрольная группа, О - опытная группа.

Таблица 3

Поведение животных в тесте «условный рефлекс пассивного избегания»

показатель	группы	Срок исследования							
		7 сут		30 сут		90 сут		180 сут	
		$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p	$x \pm SD$	p
время захода в тёмную камеру (сек)	К	17,1±4,9	0,319	24,1±8,6	0,241	21,9±9,1	0,566	29,2±9,6	0,464
	О	21,7±8,1		29,2±8,9		21,1±8,3		28,2±8,7	
«+» рефлекс избегания (кол-во)	К	12,1±4,1	0,322	15,9±4,9	0,045	13,9±4,0	0,891	9,0±4,2	0,688
	О	15,1±4,9		11,5±4,0		14,2±4,3		10,1±4,4	

Примечание: К – контрольная группа, О – опытная группа.

и воспроизведения навыка в методике «УРПИ» (табл. 3), которые свидетельствовали о снижении мнестических функций у животных опытной группы на 27,3% по сравнению с группой биологического контроля ($p < 0,05$).

К 90 суткам эксперимента отмечалось значительное снижение тревожности и потеря осторожности на 45,2% у животных опытной группы с повышением уровня ориентировочно-исследовательской реакции на 19,5% в тесте «ПКЛ» (табл. 2) по сравнению с группой биологического контроля ($p < 0,001$). При тестировании животных по методикам «Открытое поле» и «УРПИ» достоверных различий между группами выявлено не было ($p > 0,05$).

На 180 сутки эксперимента результаты тестирования по применяемым методикам не выявили достоверных различий между группами сравнения ($p > 0,05$).

Учитывая современные представления о физиологии ЦНС, полученные в эксперименте данные также могут быть характерны для нарушения метаболизма нейротрансмиттеров. Так, дофамин, выделяющийся в двигательных подкорковых ядрах, мозжечке и моторной коре большого мозга, является локомоторным медиатором-ингибитором, т.е. снижает спонтанную двигательную активность. Поступление растворимых соединений урана в организм крысы может приводить к снижению концентрации дофамина в различных областях мозга включая мозжечок. Также, у обследованных лиц, работающих в особых условиях зоны отчуждения Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС) отмечался дефицит дофамина в структурах ЦНС, сопровождающийся псевдо-паркинсоническими явлениями [7,15].

В соответствии с современной концепцией, в основе формирования синдрома тревоги лежит

нарушение баланса медиаторов нервной системы: серотонина, норадреналина и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК). В частности, повышенная секреция серотонина в структурах ЦНС обуславливает возникновение патологического тревожного расстройства, а истощение запасов этого нейротрансмиттера влечёт индифферентное отношение к потенциально угрожающим ситуациям. В литературе описано снижение концентрации серотонина в различных областях мозга крысы при длительном наблюдении за животными при поступлении уранил-нитрата с водой *per os* [7]. Кроме того, стимуляция отдельных структур лимбической системы, височных корковых зон, определенных зон моста мозга, содержащего большинство клеток норадренэргических нейронов, сопровождается реакциями страха у экспериментальных животных, а их разрушение сопровождается снижением уровня страха и агрессии. У лиц, работающих в зоне отчуждения ЧАЭС отмечалась патогенетическая связь концентрации норадреналина в структурах ЦНС с астено-депрессивными и тревожными состояниями. Выявленные закономерности были характерны для общего неспецифического синдрома дезадаптации. Также, блокада рецепторов бензодиазепинов, регулирующих метаболизм ГАМК, вызывает в эксперименте на животных острый тревожный синдром [15].

Ацетилхолиновая система играет большую роль в формировании когнитивных процессов ЦНС, а утрата холинергических нейронов в базальных ядрах головного мозга может приводить к снижению мнестических функций. Повышенная активность ацетилхолинэстеразы ЦНС при инкорпорации соединений урана в организм крысы отмечена некоторыми исследователя-

ми косвенно характеризует влияние ОУ на модуляцию холинэргических систем мозга и может являться причиной снижения памяти [7,12].

Выводы.

1. Приведенные экспериментальные данные по оценке поведенческих реакций лабораторных животных в ответ на однократное введение ОУ per os с водой свидетельствуют о выраженном временном расстройстве интегративных функций головного мозга лабораторных живот-

ных к 30–90 суткам исследования, с восстановлением исходных показателей к 180 суткам эксперимента.

2. Эффекты ОУ в ЦНС (даже при однократном поступлении) свидетельствуют о его нейротоксичности, которая, возможно, обусловлена прямой оксидантной активностью соединений урана в отношении наиболее чувствительных структур головного мозга и нейромедиаторных систем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аль Сабунчи Азхар. Эколого-гигиенические проблемы Ирака. Вестник РГМУ. 2009; (1): 71–73.
 2. Заключение специалистов межведомственной группы экспертов по рассмотрению последствий применения силами НАТО в Югославии боеприпасов с обеднённым ураном. / Совместный Приказ Минатом РФ, МО РФ и Минздрава РФ (№ 96/81/53 от 22.02.2001.). М.: 2001.
 3. Калистратова В.С., ред. Радиобиология инкорпорированных радионуклидов. М.: ГИЦ РФ ФГБУ «ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России»; 2012.
 4. Bertell R. Depleted uranium: all the questions about DU and Gulf War syndrome are not yet answered. Int. J. Health. Serv. 2006; 36(3): 503–520.

5. Engel C.C., Hyams K.C., Scott K. Managing future Gulf War Syndromes: international lessons and new models of care. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 2006; 361(1468): 707–720.
 6. Barber D.S., Ehrich M.F., Jortner B.S. The effect of stress on the temporal and regional distribution of uranium in rat brain after acute uranyl acetate exposure. J. Toxicol. Environ. Health A. 2005; 68(2): 99–111.
 7. Bussy C., Lestaavel P., Dhieux B., Amourette C., Paquet F., Goumelson P. et al. Chronic ingestion of uranyl nitrate perturbs acetylcholinesterase activity and monoamine metabolism in male rat brain. Neurotoxicology. 2006; 27(2): 245–252.
 8. Fitsanakis V.A., Erikson K.M., Garcia S.J., Evje L., Syversen T., Aschner M. Brain accumulation of depleted uranium in rats following 3- or

6-month treatment with implanted depleted uranium pellets. Biol. Trace Elem. Res. 2006; 111(1–3): 185–197.
 9. Houpert P., Bizot J. C., Bussy C., Dhieux B., Lestaavel P., Goumelson P. et al. Comparison of the effects of enriched uranium and 137-caesium on the behaviour of rats after chronic exposure. Int. J. Radiat. Biol. 2007; 83(2): 99–104.
 10. Linares V. Pro-oxidant effects in the brain of rats concurrently exposed to uranium and stress. Toxicology. 2007; 236: 82–92.
 11. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения (перевод с англ.). М.: Высшая школа; 1991.
 12. Barillet S., Adam C., Palluel O., Devaux A. Bioaccumulation, oxidative stress and neurotoxicity in Danio Rerio exposed to different

isotopic compositions of uranium. Environmental Toxicology and Chemistry. 2007; 26(3): 497–505.
 13. Jiang G.C., Aschner M. Neurotoxicity of depleted uranium: reasons for increased concern. Biol. Trace Elem. Res. 2006; 110(1): 1–17.
 14. Lestaavel P., Romero E., Dhieux B. et al. Different pattern of brain pro-/anti-oxidant activity between depleted and enriched uranium in chronically exposed rats. Toxicology. 2009; 258(1): 1–9.
 15. Ткаченко Н.П. Психологический статус ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС с цереброваскулярными болезнями. Обнинск: Государственное учреждение Медицинский радиологический научный центр ПАМН; 2005.

REFERENCES:

1. Al' Sabunchi Azkhar. Ekologo-gigienicheskie problemy Iraka. Vestnik RGMU. 2009; (1): 71–73 (in Russian).
 2. Zaklyuchenie spetsialistov mezhdovedstvennoy gruppy ekspertov po rassmotreniyu posledstviy primeneniya silami NATO v Yugoslavii boeprispasov s obedennym uranom. Sovmestnyy Prikaz Ministra RF i Ministra zdravookhraneniya RF (№ 96/81/53 ot 22.02.2001.) M.: 2001 (in Russian).
 3. Kalistratova V.S. red. Radiobiologiya inkorporirovannykh radionuklidov. M.: Izd-vo FMBC im. A.I. Bumazyana FMBA Rossii; 2012 (in Russian).
 4. Bertell R. Depleted uranium: all the questions about DU and Gulf War syndrome are not yet answered. Int. J. Health. Serv. 2006; 36(3):

503–520.
 5. Engel C.C., Hyams K.C., Scott K. Managing future Gulf War Syndromes: international lessons and new models of care. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 2006; 361(1468): 707–720.
 6. Barber D.S., Ehrich M.F., Jortner B.S. The effect of stress on the temporal and regional distribution of uranium in rat brain after acute uranyl acetate exposure. J. Toxicol. Environ. Health A. 2005; 68(2): 99–111.
 7. Bussy C., Lestaavel P., Dhieux B., Amourette C., Paquet F., Goumelson P. et al. Chronic ingestion of uranyl nitrate perturbs acetylcholinesterase activity and monoamine metabolism in male rat brain. Neurotoxicology. 2006; 27(2): 245–252.
 8. Fitsanakis V.A., Erikson K.M., Garcia S.J., Evje

L., Syversen T., Aschner M. Brain accumulation of depleted uranium in rats following 3- or 6-month treatment with implanted depleted uranium pellets. Biol. Trace Elem. Res. 2006; 111(1–3): 185–197.
 9. Houpert P., Bizot J. C., Bussy C., Dhieux B., Lestaavel P., Goumelson P. et al. Comparison of the effects of enriched uranium and 137-caesium on the behaviour of rats after chronic exposure. Int. J. Radiat. Biol. 2007; 83(2): 99–104.
 10. Linares V. Pro-oxidant effects in the brain of rats concurrently exposed to uranium and stress. Toxicology. 2007; 236: 82–92.
 11. Buresh YA., Bureshova O., H'yuston D. Metodiki i osnovnye ehksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya. / Perevod s angl. – M.: Vysshaya shkola; 1991 (in Russian).

12. Barillet S., Adam C., Palluel O., Devaux A. Bioaccumulation, oxidative stress and neurotoxicity in Danio Rerio exposed to different isotopic compositions of uranium. Environmental Toxicology and Chemistry. 2007; 26(3): 497–505.
 13. Jiang G.C., Aschner M. Neurotoxicity of depleted uranium: reasons for increased concern. Biol. Trace Elem. Res. 2006; 110(1): 1–17.
 14. Lestaavel P., Romero E., Dhieux B. et al. Different pattern of brain pro-/anti-oxidant activity between depleted and enriched uranium in chronically exposed rats. Toxicology. 2009; 258(1): 1–9.
 15. Tkachenko N.P. Psihologicheskij status likvidatorov posledstviy avarii na CHAEHS s cerebrovaskulyarnymi boleznyami. Obninsk: Izd-vo MRNC RAMN; 2005 (in Russian).

D.V. Gerasimov

ANALYSIS OF FUNCTIONAL CHANGES IN THE RODENTS CENTRAL NERVOUS SYSTEM AT A SINGLE UPTAKE OF DEPLETED URANIUM OXIDE MIXED WITH WATER

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, 119991 Moscow, Russian Federation

Behavioral responses in experimental animals were studied in an experiment after a single uptake of aqueous solution of mixed depleted uranium oxide using standard techniques. The experimental research showed pronounced integrative functions disorders in the rodents brain which are associated with impacts of uranium compounds on structures providing coordination of motor acts, on conditioned reflex activity as well as anxiety-phobic and emotional state of animals. Temporary neurotoxic effects of depleted uranium may be a result of both direct oxidant activity impact of uranium compounds on neurons and consequence of their effect on the neurotransmitter metabolism.

Keywords: depleted uranium, incorporation, brain, behavioral reaction.

Переработанный материал поступил в редакцию 09.02.2017 г.

УДК 615.099-055

ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ЭСТЕРАЗНОГО ПРОФИЛЯ КРОВИ МЫШЕЙ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ 2-(О-КРЕЗИЛ)-4Н-1,3,2-БЕНЗОДИОКСОФОСФОРИН-2-ОКСИДОМ

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

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, Российская Федерация

Проведено сравнительное исследование эстеразных профилей крови мышей обоего пола и действия на них различных доз 2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодиоксиафосфорин-2-оксида (СВDP) спустя 1 час после его подкожного введения животным. Меньшее количество эстераз в крови самцов сделало их более восприимчивыми к действию СВDP по сравнению с самками. Показано, что СВDP в равной степени ингибирует активность карбоксилэстеразы и бутирилхолинэстеразы в сыворотке крови мышей, как самцов, так и самок. Выявлены статистически значимые отличия в степени ингибирования ферментов между самцами и самками, поэтому не рекомендуется использовать смешанные группы животных при проведении исследований ингибиторов сериновых эстераз.

Ключевые слова: 2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодиоксиафосфорин-2-оксид, отравление, сериновые эстеразы, ингибитор, мышцы, гендерные отличия.

Введение. Известно, что традиционные лабораторные животные довольно сильно отличаются друг от друга по наличию и активности тех или иных эстераз [1-4]. Кроме того, видовые различия в структуре активных центров этих ферментов не изучены, в связи с чем, один и тот же ингибитор может по-разному действовать на разные виды грызунов. Помимо межвидовых различий существуют и внутривидовые отличия. К примеру, в исследовании J.G. Clement и N. Erhardt, проведенном *in vitro* на пулированной сыворотке крыс трех разных линий, было выявлено статистически значимые отличия в активностях КЭ и БХЭ [5]. Более того, оказалось, что значения ED₅₀, полученные при инкубировании 2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодиоксиафосфорин-2-оксида (СВDP), одного из известных ингибиторов карбоксилэстеразы (КЭ), с сыворотками разных линий крыс, не во всех случаях коррелируют с базальными активностями обоих ферментов. Так, значения ED₅₀ у линий Sprague Dawley и Fischer, имеющих сопоставимую активность бути-

рилхолинэстеразы (БХЭ) и КЭ, отличаются в 5 раз. По результатам проведенного исследования [5] была выдвинута гипотеза о существовании различий в изоферментном составе КЭ у разных линий лабораторных животных на примере крыс. Тем не менее, на основании литературных данных [6-11] можно предположить, что на выраженность эффекта действия ингибитора по отношению к конкретной молекулярной мишени должно оказывать влияние общее количество мишеней для него в организме, в том случае, если не существует больших различий в их изоферментном составе. Для проверки гипотезы было решено взять животных одного вида, но разного пола, так как изоферментный состав их сериновых эстераз должен быть максимально близок, в то время как активность отдельных ферментов может отличаться [12]. Необходимо отметить, что подобные сравнения эстеразных профилей мышей разного пола в полном объеме в литературе не представлены, хотя гендерные сравнения значений некоторых показателей, таких как актив-

Прокофьева Дарья Станиславовна (Prokofieva Daria Stanislavovna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, darija-p1@yandex.ru

Шмурак Владимир Игоревич (Shmurak Vladimir Igorevich), научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, vladimir.shmurak@gmail.com

Бодрякова Елена Антоновна (Bodryakova Elena Antonovna), старший лаборант лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, bodalena@yandex.ru

Войтенко Наталья Геннадиевна (Voytenko Natal'ya Gennadijevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ngvoitenko@gmail.com

ность КЭ, БХЭ, ацетилхолинэстеразы (АХЭ) цельной крови [12] и параоксоназной активности можно встретить [13].

В качестве необратимого ингибитора сериновых эстераз мы выбрали СВDP. Имеющиеся в литературе данные о его ингибирующем действии *in vivo* по отношению к эстеразам разных видов многочисленны, датированы второй половиной 80-х годов XX века, но окончательно не систематизированы. Отсутствует информация о его влиянии на активность БХЭ и КЭ, основных ферментов сыворотки, взаимодействующих с ксенобиотиками, в рамках одного эксперимента *in vivo*. Кроме того, в подавляющем большинстве исследований 80-х годов 20 века активность КЭ оценивали с использованием субстрата трибутирина [8-10]. С течением времени его вытеснили другие субстраты: *p*-нитрофенилацетат (*p*-НФА) и α -нафтилацетат (α -НА) [7, 11, 14]. Ввиду того, что в доступных источниках отсутствуют какие-либо работы, посвященные сравнению результатов по определению активности КЭ с помощью всех трех субстратов с целью оценки их специфичности, сложно проводить сравнение между данными, полученными при использовании СВDP несколько десятилетий тому назад и новыми необратимыми ингибиторами КЭ, эффект которых оценивают по гидролизу *p*-НФА и α -НА.

Целью настоящего исследования являлось детальное изучение гендерных особенностей эстеразного профиля мышей и ингибирующего действия СВDP по отношению к основным эстеразам крови мышей.

Материалы и методы исследования. В работе были использованы самки и самцы белых аутбредных мышей массой 20-25 г. Перед началом эксперимента животные были распределены случайным образом по группам. Количество животных в группах составляло от 8 до 10 особей. Проведение токсикологического эксперимента было одобрено комитетом ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России по вопросам биоэтики. При работе были соблюдены требования по гуманному обращению с животными. Условия содержания экспериментальных животных соответствовали нормативному документу «Правила лабораторной практики в Российской Федерации (GLP)» (утв. Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации 23.08.2010 N 708).

СВDP синтезировали по методу, описанному в работе А.А. Nomeir и М.В. Abou-Donia в 1986 году [15]. Для проведения экспериментов готовили раствор СВDP в 5% этиловом спирте на пропиленгликоле, который вводили п/к в дозах 0,2, 0,5, 1, 2, 4, 8 и 20 мг/кг. Контрольной группе вводили растворитель эквивалентного объема. Спустя 1 час животных выводили из эксперимента.

В работе были использованы традиционные спектрофотометрические методы анализа активности сериновых эстераз в сыворотке крови с не-

значительными модификациями. При определении активностей БХЭ в качестве субстрата использовали бутирилтиохолин. Для оценки активности КЭ использовали два субстрата: α -нафтилацетат (α -НА) и *p*-нитрофенилацетат (*p*-НФА). Активность АХЭ эритроцитов измеряли после двукратной их отмывки от белков плазмы, используя в качестве субстрата ацетилтиохолин. Тот же субстрат был использован для оценки холинэстеразной активности сыворотки крови. Оценку активности АХЭ сыворотки крови проводили в присутствии ингибитора БХЭ iso-OMPA, поскольку известно, что БХЭ способна активно гидролизовать ацетилтиохолин. Активность параоксоназы (ПОН) измеряли с помощью параоксона в присутствии 2мМ CaCl₂ в 0,1М буферном растворе Tris-HCl pH 8,0.

Данные подчинялись нормальному распределению, поэтому для дальнейшей обработки использовали двуххвостовой непарный тест Стьюдента (для сравнения базовых активностей ферментов у самок и самцов) и параметрический однофакторный дисперсионный анализ и тест Даннета (частный случай поправки Бонферрони для сравнения нескольких групп с контролем). Для оценки характера и степени совместного влияния двух факторов (дозы и пола животных) на исследуемые параметры применяли двухфакторный дисперсионный анализ. Критический уровень значимости (P) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Данные на рисунках представлены в виде «среднее±стандартное отклонение». Статистическую обработку данных проводили с использованием абсолютных значений активности ферментов. Для облегчения восприятия часть данных в таблицах представлена в относительных значениях: % от среднего значения величины в контрольной группе.

Результаты и обсуждение. Результаты оценки эстеразного профиля животных, использованных в работе, приведены в таблице 1. В ходе проведенных исследований было установлено, что активность сыворотки крови самок в 1,5 раза выше по сравнению с самцами при использовании в качестве субстратов бутирилтиохолина, *p*-НФА и ацетилтиохолина, что согласуется с данными Tuovinen с сотр. [12]. Выявленные отличия носят статистически значимый характер. Можно с уверенностью говорить о гендерных различиях в активности БХЭ сыворотки животных, поскольку субстрат бутирилтиохолин считается достаточно специфичным для данного фермента. В работе [2] с помощью нативного электрофореза в полиакриламидном геле показано, что бутирилтиохолин расщепляет только БХЭ плазмы мышши. Кроме того, известно, что в активность сыворотки крови по ацетилтиохолину вносят свой вклад главным образом две сериновые эстеразы: АХЭ и БХЭ. Так как мы установили, что активности АХЭ сыворотки крови самцов

и самок различаются незначительно, а активности по ацетилтихолину сильно и в такой же степени, что и активности по бутирилтихолину, то различие в активности сыворотки крови по ацетилтихолину также можно объяснить только существенными различиями в активностях БХЭ животных разного пола. Что касается впервые выявленных различий в данных, полученных для двух субстратов КЭ, наиболее часто используемых исследователями в настоящее время, то можно выдвинуть следующие предположения. С одной стороны известно, что БХЭ как и КЭ мышей способна гидролизовать как р-НФА так и α -НА, однако последний – в гораздо меньшей степени [1,2]. При сопоставлении данных, полученных двумя группами исследователей [1,2], можно утверждать, что вклад БХЭ в активность сыворотки крови мышей по обоим субстратам сопоставим и незначителен, поэтому активности сыворотки мышей разного пола по α -НА не различаются, а отличия в активностях по р-НФА нельзя объяснить влиянием на эту активность БХЭ. С другой стороны установлено, что в сыворотке мышей помимо КЭ и БХЭ присут-

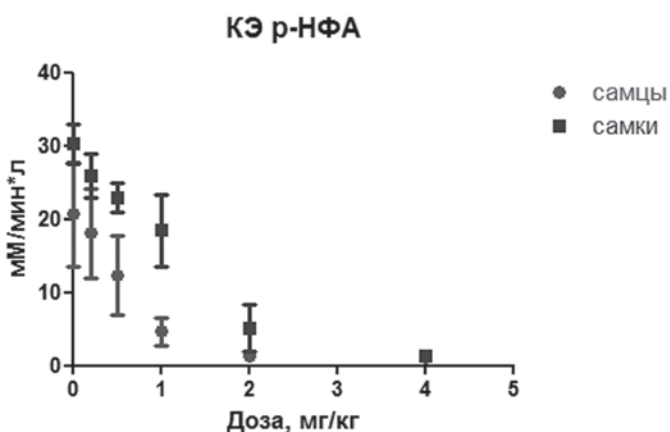


Рис. 1. Изменение активности карбоксилэстеразы (субстрат р-нирофенилацетат) в сыворотке крови самок и самцов мышей в зависимости от дозы CBDP.

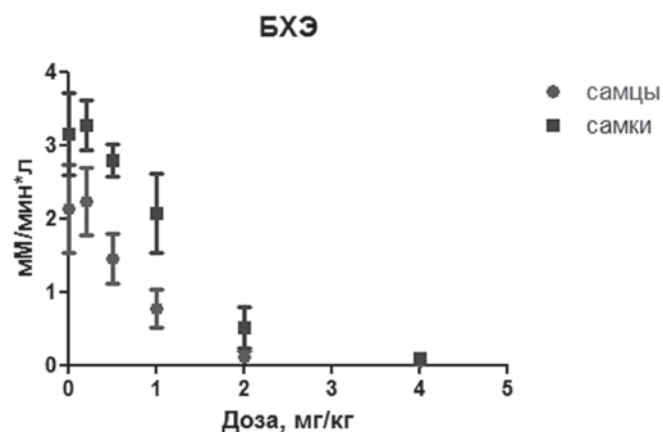


Рис. 2. Изменение активности бутирилхолинэстеразы в сыворотке крови самок и самцов мышей в зависимости от дозы CBDP.

ствуют еще как минимум 4 эстеразы, гидролизующие α -НА и β -НА, аналоги которых не были обнаружены в крови других исследованных видов [1,2]. Скорее всего, эти ферменты также будут проявлять гидролитическую активность по отношению к р-НФА. Возможно, их количество или активность у самок больше, чем у самцов. Для проверки этой гипотезы необходимо провести дополнительные эксперименты по исследованию способности эстераз сыворотки крови мышей обоего пола гидролитически расщеплять разные субстраты, используя нативный электрофорез в полиакриламидном геле. Также можно предположить, что субстрат α -НА гидролизует меньшим количеством эстераз по сравнению с р-НФА, поэтому, возможно, он более специфичен. В любом случае, полученные результаты свидетельствуют о том, что р-НФА и α -НА нельзя рассматривать в качестве равноценных субстратов при проведении оценки активности КЭ, во всяком случае при выполнении исследований на мышах.

Не было выявлено существенных отличий в активности сыворотки по параоксонсу для самцов и самок в отличие от [13]. Возможно, это связано с различиями в пробоподготовке. Тем не менее, обнаружено интересное повышение параоксоназной активности вплоть до доз CBDP 1-2 мг/кг с последующим возвращением к контрольным значениям. Причем для самок это повышение выражено сильнее и носит статистически значимый характер (табл. 2 и 3).

Выявленное статистически значимое снижение активности АХЭ сыворотки мышей обоего пола по сравнению с контролем, начиная с дозы 2 мг/кг, и отсутствие подобной картины для АХЭ эритроцитов могут свидетельствовать о том, что это – две изоформы одного фермента.

Как и следовало ожидать, принимая во внимание разницу в отдельных составляющих эстеразного профиля самцов и самок, самцы оказались более восприимчивы к действию ингибитора по сравнению с самками. При одних и тех же дозах (1-2 мг/кг) ингибирование БХЭ и КЭ по сравнению с контрольными значениями у самцов выражено почти в 3 раза сильнее, чем у самок. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что пол животных, наряду с дозой CBDP, оказался статистически значимым для таких параметров, как активность БХЭ и активности сыворотки по отношению к ацетилтихолину и р-НФА. В качестве примера на рисунках 1 и 2 приведены данные изменения абсолютных значений этих показателей в зависимости от пола животных и дозы CBDP. Гендерные различия остальных показателей при увеличении дозы ингибитора выявлены не были, поскольку базовые активности этих ферментов у самок и самцов практически не отличаются. Данные, представленные в таблицах 2 и 3, позволяют говорить об отсутствии

Таблица 1

Эстеразный профиль крови самок и самцов мышей

Пол	Активность, мМ*мин ⁻¹						
	АХЭ сыв.	АХЭ эр.	Холинэст. акт-ть	БХЭ	КЭ (р-НФА)	КЭ (α-НА)	ПОН
самцы	0,86±0,14	1,1±0,2	2,5±0,5	2,1±0,6	20,6±7,0	10,9±1,4	0,25±0,05
самки	0,98±0,12	1,1±0,2	3,6±0,4***	3,2±0,6**	30,3±2,7**	10,7±0,7	0,22±0,04

Примечание: - статистически значимые отличия по результатам двухвостового теста Стьюдента (*- P<0.05, **- P<0.01, ***- P<0.0001).

Таблица 2

Влияние острого отравления СВDP на эстеразный профиль крови самок мышей через 1 час после п/к введения

Доза, мг/кг	Активность, % от К						
	АХЭ сыв.	АХЭ эр.	Холинэст. акт-ть	БХЭ	КЭ (р-НФА)	КЭ (α-НА)	ПОН
0,2	107±13	117±7	102±10†	104±11†	86±10†	90±5	119±30
0,5	104±11	114±13	92±7†	88±7†	76±7 *†	81±3 ***	118±20
1	97±18	102±13	70±16 ***†	66±17 ***†	61±16 ***†*	78±13 ***†	142±29 **
2	76±10 **	108±27	32±7 ***	16±9 ***	17±11 ***	27±15 ***	134±25 *
4	65±12 ***	106±19	19±3 ***	2,7±1,4 ***	4,6±1,8 ***	7,2±3,1 ***	111±18
8	60±7 ***	84±8	16±3 ***	1,2±0,6 ***	2,5±0,9 ***	4,9±1,9 ***	94±35

Таблица 3

Влияние острого отравления СВDP на эстеразный профиль крови самцов мышей через 1 час после п/к введения

Доза, мг/кг	Активность, % от К						
	АХЭ сыв.	АХЭ эр.	Холинэст. активность	БХЭ	КЭ (р-НФА)	КЭ (α-НА)	ПОН
0,2	113±18	115±12	106±15†	105±22†	88±29†	95±21	105±25
0,5	114±15	122±14	93±15†	74±19 **†	61±23 ***†	75±22 *	117±30
1	93±25	106±18	56±14 ***†	36±12 ***†	22±9 ***†	37±12 ***†	117±31
2	75±19 *	109±24	27±7 ***	5,4±3,6 ***	6,3±1,7 ***	8,5±3,3 ***	122±31
4	84±26 *	120±25	26±8 ***	2,5±2,3 ***	5,9±1,3 ***	7,8±3,3 ***	106±32
20	51±10 **	-	18±3 ***	0,7±0,1 ***	5,5±0,5 ***	-	-

Примечание:* - статистически значимые отличия между контрольными и экспериментальными группами по результатам теста Dunnett или теста Стьюдента (*- P<0.05, **- P<0.01, ***- P<0.0001, ****- P<0.0001).† - статистически значимые отличия между показателями у самцов и самок для каждой дозы по результатам двухфакторного дисперсионного анализа, который проводили с использованием абсолютных значений активности ферментов. Величины активностей представлены в процентном отношении к контрольным значениям, (n =8)

избирательности CBDP по отношению к БХЭ и КЭ, поскольку относительные активности этих ферментов имеют идентичный характер снижения при повышении дозы ингибитора.

Заключение. В ходе детального сравнения активностей основных эстераз крови мышшей обоего пола было установлено, что значительная часть исследованных ферментов отличается большей активностью в крови самок по сравнению с самцами. Выявленные отличия в активностях ферментов носят статистически значимый характер, в связи с чем,

при проведении исследований ингибиторов эстераз следует использовать животных только одного пола. Тем не менее, никаких ограничений по выбору пола животных в ходе проведенного исследования на основании полученных данных не может быть установлено. Полученные результаты еще раз показывают, что при поиске и характеристике новых ингибиторов сериновых эстераз нужно изучать их влияние на как можно больший спектр ферментов, что позволит в дальнейшем лучше охарактеризовать их специфичность и видовые различия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Li B., Sedlacek M., Manoharan I., Boopathy R., Duysen E.G., Masson P., Lockridge O. Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma. *Biochem. Pharmacol.* 2005; 70(11):1673-84.
- Bahar F.G., Ohura K., Ogihara T., Imai T. Species Difference of Esterase Expression and Hydrolase Activity in Plasma. *J. Pharm. Sci.* 2012; 101(10):3979-88.
- Berry L.M., Wollenberg L., Zhao Z. Esterase activities in the blood, liver and intestine of several preclinical species and humans. *Drug Metab. Lett.* 2009; 3(2):70-77.
- Bełtowski J., Wójcicka G., Marciniak A. Species- and substrate-specific stimulation of human plasma paraoxonase 1 (PON1) activity by high chloride concentration. *Acta Biochim. Pol.* 2002; 49(4):927-936.
- Clement J.G., Erhardt N. Serum carboxylesterase activity in various strains of rats: sensitivity to inhibition by CBDP (2-/o-cresyl/4H:1.3:2-benzodioxaphosphorin-2-oxide). *Arch. Toxicol.* 1990; 64(5): 414-416.
- Duysen E.G., Koentgen F., Williams G.R., Timperley C.M., Schopfer L.M., Cerasoli D.M., Lockridge O. Production of ES1 plasma carboxylesterase knockout mice for toxicity studies. *Chem. Res. Toxicol.* 2011; 24(11): 1891-1898.
- Garrett T.L., Rapp C.M., Grubbs R.D., Schlager J.J., Lucot J.B. A murine model for sarin exposure using the carboxylesterase inhibitor CBDP. *Neurotoxicology.* 2010; 31(5):502-8.
- Maxwell D.M., Brecht K.M., Lenz D.E., O'Neill B.L. Effect of carboxylesterase inhibition on carbamate protection against soman toxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1988; 246(3):986-991.
- Clement J.G. Importance of aliesterase as a detoxification mechanism for soman (Pinacolyl methylphosphonofluoridate) in mice. *Biochem. Pharmacol.* 1984; 33(23):3807-3811.
- Jokanović M. Role of carboxylesterase in soman, sarin and tabun poisoning in rats. *Pharmacol. Toxicol.* 1989;65(3):181-184.
- Yang Z.P., Dettbarn W-D. Prevention of Tolerance to the Organophosphorus Anticholinesterase Paraoxon with Carboxylesterase Inhibitors. *Biochemical. Pharmacology.* 1998; 55(9): 1419-1426.
- Tuovinen K., Kaliste-Korhonen E., Hänninen O. Gender differences in activities of mouse esterase and sensitivities to DFP and sarin toxicity. *Gen. Pharmacol.* 1997; 29(3): 333-5.
- Wehner J.M., Murphy-Erdosh C., Smolen A., Smolen T.N. Genetic variation in paraoxonase activity and sensitivity to diisopropylphosphofluoridate in inbred mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1987;28(2):317-20.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Maamri S., Djireb F., Stocker P. Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2006; 21(6):719-26.
- Nomeir A.A., Abou-Donia M.B. Studies on the metabolism of neurotoxic tri-o-cresyl phosphate. *Toxicology.* 1986; 38: 1-13.

REFERENCES:

- Li B., Sedlacek M., Manoharan I., Boopathy R., Duysen E.G., Masson P., Lockridge O. Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma. *Biochem. Pharmacol.* 2005; 70(11):1673-84.
- Bahar F.G., Ohura K., Ogihara T., Imai T. Species Difference of Esterase Expression and Hydrolase Activity in Plasma. *J. Pharm. Sci.* 2012; 101(10):3979-88.
- Berry L.M., Wollenberg L., Zhao Z. Esterase activities in the blood, liver and intestine of several preclinical species and humans. *Drug Metab. Lett.* 2009; 3(2):70-77.
- Bełtowski J., Wójcicka G., Marciniak A. Species- and substrate-specific stimulation of human plasma paraoxonase 1 (PON1) activity by high chloride concentration. *Acta Biochim. Pol.* 2002; 49(4):927-936.
- Clement J.G., Erhardt N. Serum carboxylesterase activity in various strains of rats: sensitivity to inhibition by CBDP (2-/o-cresyl/4H:1.3:2-benzodioxaphosphorin-2-oxide). *Arch. Toxicol.* 1990; 64(5): 414-416.
- Duysen E.G., Koentgen F., Williams G.R., Timperley C.M., Schopfer L.M., Cerasoli D.M., Lockridge O. Production of ES1 plasma carboxylesterase knockout mice for toxicity studies. *Chem. Res. Toxicol.* 2011; 24(11): 1891-1898.
- Garrett T.L., Rapp C.M., Grubbs R.D., Schlager J.J., Lucot J.B. A murine model for sarin exposure using the carboxylesterase inhibitor CBDP. *Neurotoxicology.* 2010; 31(5):502-8.
- Maxwell D.M., Brecht K.M., Lenz D.E., O'Neill B.L. Effect of carboxylesterase inhibition on carbamate protection against soman toxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1988; 246(3):986-991.
- Clement J.G. Importance of aliesterase as a detoxification mechanism for soman (Pinacolyl methylphosphonofluoridate) in mice. *Biochem. Pharmacol.* 1984; 33(23):3807-3811.
- Jokanović M. Role of carboxylesterase in soman, sarin and tabun poisoning in rats. *Pharmacol. Toxicol.* 1989;65(3):181-184.
- Yang Z.P., Dettbarn W-D. Prevention of Tolerance to the Organophosphorus Anticholinesterase Paraoxon with Carboxylesterase Inhibitors. *Biochemical. Pharmacology.* 1998; 55(9): 1419-1426.
- Tuovinen K., Kaliste-Korhonen E., Hänninen O. Gender differences in activities of mouse esterase and sensitivities to DFP and sarin toxicity. *Gen. Pharmacol.* 1997; 29(3): 333-5.
- Wehner J.M., Murphy-Erdosh C., Smolen A., Smolen T.N. Genetic variation in paraoxonase activity and sensitivity to diisopropylphosphofluoridate in inbred mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1987; 28(2):317-20.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Maamri S., Djireb F., Stocker P. Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2006; 21(6):719-26.
- Nomeir A.A., Abou-Donia M.B. Studies on the metabolism of neurotoxic tri-o-cresyl phosphate. *Toxicology.* 1986; 38: 1-13.

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

GENDER SPECIFIC CHANGES IN MOUSE BLOOD ESTERASE PROFILE AT THE ACUTE INTOXICATION BY 2-(O-CRESYL)-4H-1,3,2-BENZODIOXAPHOSPHORIN-2-OXIDE

Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency of Russia, 188663, Saint Petersburg, Russian Federation

A comparative investigation of the esterase profiles of blood of mice of both genders exposed to various doses of 2-(o-cresyl)-4H-1,3,2-benzodioxaphosphorin-2-oxide (CBDP) was made an hour after its percutaneous injection to animals. A lesser amount of esterase in males blood made them more susceptible to CBDP action as compared to females. It was shown that CBDP equally inhibits the activity of carboxyl esterase and butyryl choline esterase in blood serum of both male and female mice. Statistically significant differences in inhibition degree of enzymes between males and females were found out and therefore it is not recommended to use mixed groups of animals when performing testing of serine esterase inhibitors.

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

Переработанный материал поступил в редакцию 23.09.2016 г.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 574.24: 574.58

ИЗМЕНЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА, ВЫЖИВАЕМОСТИ И МЕТАБОЛИЗМА В ДВУХ ПОКОЛЕНИЯХ *DAPHNIA MAGNA* В СРЕДЕ С ПИПЕРОНИЛ БУТОКСИДОМ

Н.И. Колесникова¹,
А.О. Морозова¹, Д.В. Ускалова¹,
Е.И. Саранульцева^{1,2}

¹Обнинский институт атомной
энергетики – филиал ФГАО ВПО
НИЯУ МИФИ, 249040, г. Обнинск,
Калужская обл., Российская
Федерация

²ФГАО ВПО Национальный
исследовательский ядерный
университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ),
115409, г. Москва, Российская
Федерация

В работе проанализированы изменения выживаемости, плодовитости и метаболической активности в двух поколениях ракообразных *Daphnia magna* в среде с пиперонил бутоксидом (ПБО) в концентрациях от 50 до 800 мкг/мл в 21-суточном эксперименте в каждом поколении. Нарушение метаболизма оценено МТТ-тестом, традиционно применяемым *in vitro* для анализа цитотоксичности лекарственных препаратов. МТТ-тест интегрально отражает количество активных форм кислорода, инактивацию митохондриальных оксидаз, соотношение живых и мертвых клеток и работу системы антиоксидантных ферментов. Выявлено, что в первом поколении полулетальной для плодовитости дафний является концентрация ПБО 353 мкг/л, для выживаемости – 650 мкг/л. Во втором поколении токсическая концентрация снижается почти в два раза и составляет 194 мкг/л для плодовитости и 200 мкг/л для выживаемости. Обнаружен цитотоксический эффект действия ПБО на дафний.

Ключевые слова: *Daphnia magna*, пиперонил бутоксид, цитотоксичность, выживаемость, плодовитость.

Введение. Пиперонил бутоксид (ПБО) – вещество-синергист пиретроидов инсектицидного действия. Входит в состав более полутора тысяч препаратов, применяемых в сельском хозяйстве, в быту и на производстве. Его используют для уничтожения плодовой мухи и вредителей, а также при хранении зерна. Основным механизмом токсического действия препарата является усиление влияния синтетических пиретроидов на нервную систему насекомых, блокада защитных ферментов насекомых [1]. Водный раствор ПБО быстро разлагается под действием ультра-

фиолетовых лучей, поэтому опасность представляет только острое инсектицидное действие вещества. Лимитирующим критерием вредности соединения для теплокровных животных является его гепатотоксическое действие. Симптомы интоксикации развиваются спустя 20 мин после воздействия препаратом. Интоксикация проявляется в виде нарушения двигательной активности, прострации, появления выделений из глаз. Летальная медиальная доза (ЛД₅₀) при введении в желудочный тракт крыс составляет 4570 мг/кг, для мышей – 2650 мг/кг. Менее чувствительны

Колесникова Наталья Игоревна (Kolesnikova Nataliya Igorevna), студентка 3 курса кафедры биологии Обнинского института атомной энергетики – филиала ФГАО ВПО НИЯУ МИФИ, 249040, г. Обнинск, Калужская обл., Natasha442707245@mail.ru

Морозова Александра Олеговна (Morozova Alexandra Olegovna), студентка 3 курса кафедры биологии Обнинского института атомной энергетики – филиала ФГАО ВПО НИЯУ МИФИ, 249040, г. Обнинск, Калужская обл., Sashkaa95@yandex.ru

Ускалова Дарья Вадимовна (Uskalova Daria Vadimovna), аспирантка 2 года обучения кафедры биологии Обнинского института атомной энергетики – филиала ФГАО ВПО НИЯУ МИФИ, 249040, г. Обнинск, Калужская обл., uskalovad@mail.ru

Саранульцева Елена Игоревна (Saranultseva Elena Igorevna), доктор биологических наук, доцент Обнинского института атомной энергетики – филиала ФГАО ВПО НИЯУ МИФИ, 249040, г. Обнинск, Калужская обл., helen-bio@yandex.ru

к препарату собаки и коты (LD_{50} больше 7900 мг/кг). Коэффициент видовой чувствительности составляет 2,98. Однократно принятая доза 50 мг (0,71 мг/кг) является безопасной для человека [2].

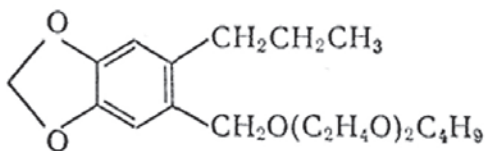
Для безопасного применения любого химиката в окружающей среде используют расчеты его предельно-допустимой концентрации по выживаемости и плодовитости принятых в экотоксикологии тест-организмов. Согласно современным методическим подходам к оценке канцерогенного риска, вещества с негенотоксическим механизмом канцерогенного действия нормируются по принципам общей токсикометрии [3]. Одним из широко используемых в экотоксикологии для нормирования вредных веществ является ветвистоусый рачок *Daphnia magna*. Дафниевый тест входит в международный экотоксикологический стандарт [4].

Целью данной работы был анализ общего токсического действия ПБО, вызывающего изменение выживаемости и плодовитости ракообразных *Daphnia magna* в двух поколениях в модельном эксперименте, а также анализ цитотоксического действия препарата по изменению метаболической активности рачков.

Материалы и методы исследования.

Характеристика вещества

Пиперонил бутоксид – маслянистая жидкость желтого цвета, со слабым специфическим запахом. Химическое название 5-2-(2-бутоксипропилокси)-6-пропил-1,3-бензодиазоксол. Эмпирическая формула $C_{19}H_{30}O_5$, cas 51-03-6



Относительная молекулярная масса 338,43; растворяется в воде 14,3 мг/л (25°C); хорошо растворяется в органических растворителях; Ткип 180°C, давление пара $1 \cdot 10^{-7}$ мм. рт. ст. (25°C), константа Генри $2,3 \cdot 10^{-6}$ Р м³ моль⁻¹ (25°C), удельная плотность 1,060 (20°C); Ко/в $4,51 \cdot 10^4$; водный раствор быстро разлагается на свету [2].

Культивирование *Daphnia magna* и схема эксперимента

Культура *Daphnia magna* Straus успешно культивируется несколько лет в нашей лаборатории по международному протоколу [4]. «Культивирование рачков проводили на водопроводной отстаиванной дважды фильтрованной воде, имеющей следующие характеристики: рН 7,5 – 8,2, O_2 ~10,0 мг/л; жесткость ~ 6,8 мг/л, соотношение Са:Мг 4:1, железа – менее 0,3 мг/л, Мн 0,1 мг/л, хлоридов – до 12 мг/мл, фосфатов – менее 0,05 мг/мл, сульфатов

около 44 – 50 мг/мл, взвешенных веществ – менее 3 мг/мл.»

Для получения синхронизированной культуры половозрелых самок по 5 особей культивировали в лабораторных стаканах со 100 мл воды при режиме освещенности 700 люкс 12 ч/ 12 ч свет/тьма при 20°C (Климатоста, модель R2 Спецкомплектресурс, Россия) и обновления воды дважды в неделю. Рачков кормили ежедневно суспензией зеленых водорослей (*Chlorella vulgaris*) в концентрации 1,87 мг С/л (плотность $4 \cdot 10^5$ кл./мл). Удаляли молодь первых пометов.

В эксперимент было отобрано по 10 новорожденных дафний третьего помета (поколение F₁). Односуточных рачков рассаживали индивидуально в лабораторные стаканы с 50 мл воды, в которой создавали разные концентрации расторопного в 96%-ом этиловом спирте ПБО – 0 (контроль), 50, 100, 200, 400 и 800 мкг/л. Исходные концентрации вещества были приготовлены таким образом, чтобы аликвота составила 25 мкл раствора на 1 л воды. В контрольные образцы добавляли спирт в той же аликвоте. Дафний культивировали в режиме освещения 12 ч/ 12 ч свет/тьма при 20°C в климатостате 21 сут. Кормили рачков ежедневно. Воду с веществом меняли через сут, погибших дафний учитывали и удаляли. Новорожденную молодь учитывали и использовали для анализа на цитотоксичность.

Для получения второго поколения (F₂) по 10 односуточных дафний из третьего помета поколения F₁ от трех разных самок рассаживали в лабораторные стаканы с 50 мл воды и создавали концентрации ПБО – 0 (контроль), 50, 100, 200, 400 и 800 мкг/л ПБО как в поколении F₁. Рачков культивировали в климатостате при оптимальных условиях до 21-суточного возраста. Анализировали выживаемость и плодовитость. Новорожденную молодь учитывали и использовали для анализа на цитотоксичность.

МТТ-тест для оценки цитотоксического действия вещества

Для анализа цитотоксичности использовали водорастворимый 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид (МТТ) [5]. МТТ-метод интегрально отражает количество активных форм кислорода, в том числе, короткоживущих супероксид анион-радикалов, инактивацию сукцинатдегидрогеназ и других митохондриальных оксидаз, соотношение живых и мертвых клеток и работу системы антиоксидантных ферментов. Метод основан на способности митохондриальных дегидрогеназ восстанавливать проникающий в клетки бесцветный МТТ с образованием нерастворимого окрашенного формазана. Последующий фотометрический анализ позволяет сопоставить изменение оптической плотности раствора по от-

ношению к контролю с изменением количества жизнеспособных клеток и оценить эффективность цитотоксического действия анализируемого соединения.

МТТ-тест применен в разработанной авторами модификации для анализа цитотоксического эффекта у *D. magna* в опытах *in vivo* [6]. Для проведения анализа 4-суточную новорожденную молодь по 50 особей из каждой опытной и контрольной групп поколения F1 и F2 пересаживали в микропробирки типа «Эппендорф» и проводили МТТ-тест на цитотоксичность. Для этого из микропробирок удаляли воду, добавляли по 100 мкл раствора МТТ и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре в темноте. По окончании инкубации супернатант осторожно удаляли, добавляли по 200 мкл ДМСО («ЦАМАКС», Россия). Через 10 мин содержимое микропробирок гомогенизировали с помощью пестика. Для получения фоновых проб 50 четырехсуточных дафний из контрольных групп гомогенизировали в 200 мкл ДМСО. МТТ не добавляли. По 200 мкл надосадочной жидкости из фоновых проб помещали в лунки В2.....В6 96-ти луночного планшета. Крайние ряды (А1.....А6 и В1, С1, Е1...) не заполняли во избежание искажения результатов. После растворения гранул формазана супернатант из каждой опытной пробы переносили по 200 мкл в лунки С2.....С6, D2.....D6, Е2.....Е6. Оптическую плотность определяли при длине волны 492 (рабочая) и 630 нм (шумовая). Измерения оптической плотности окрашенных образцов проводили на планшетном иммуноферментном анализаторе «StatFax» 2100 («Awareness Technology», США, VIS-модель).

Статистическая обработка данных

Значимость отличия с контролем количественных признаков оценена тестом Манна-Уитни, качественных признаков – χ^2 -тестом. Расчеты проведены в программе Statistica 12. Коэффициенты корреляции рассчитаны между показателями метаболической активности новорожденного потомства дафний поколений F1 и F2 и показателями изменения плодовитости и выживаемости ракообразных в этих поколениях.

Результаты и их обсуждение. На рисунке 1 А представлены данные по выживаемости дафний к 21-м сут эксперимента в процентах относительно соответствующих контролей для каждого поколения. Видно, что выживаемость дафний, культивируемых при разных кон-

центрациях ПБО, снижается, начиная с 100 мкг/л вещества в каждом поколении. Поскольку дафнии, культивируемые при концентрации ПБО 800 мкг/л, не приносили потомства, во втором поколении эта группа отсутствовала. С применением критерия χ^2 рассчитали, что значимое снижение выживаемости тест-объекта в F1 происходит при концентрации ПБО 800 мкг/л, в поколении F2 – при 400 мкг/л.

На рисунке 1 Б представлены значения оптической плотности, характеризующие изменение метаболической активности в образцах новорожденных дафний от самок из поколений F1 (F1')

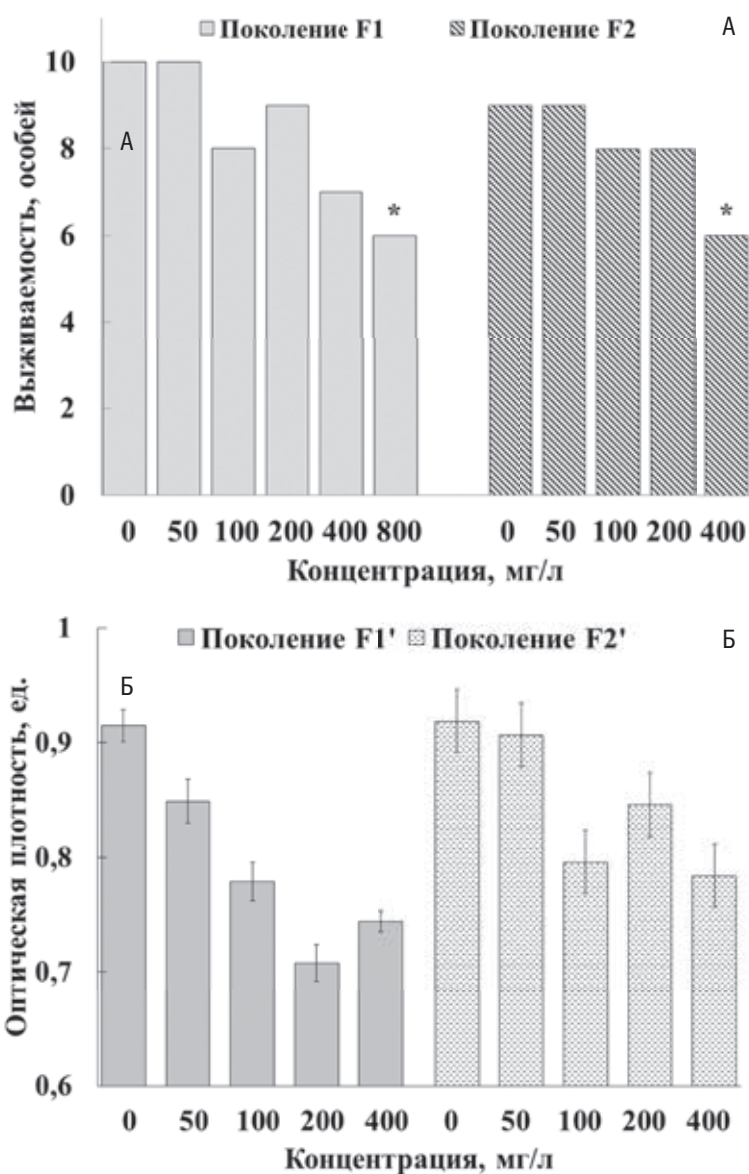


Рис. 1. Изменение (А) выживаемости и (Б) метаболической активности *D. magna* при культивировании в среде с пиперонил бутоксид в двух поколениях к 21-м сут эксперимента.

Таблица 1

Изменение плодовитости *Daphnia magna* в F1 и F2, культивируемых с разной концентрацией пиперонил бутоксида

Концентрация пиперонил бутоксида, мг/л	Новорожденных на дафнию, особей	Пометов на дафнию, штук	Новорожденных на помет, особей
	M ± SEM (p†)		
Поколение F1, N = 10			
0	70,10±1,30 (-)	3,80±0,85 (-)	18,60±0,97 (-)
50	71,70±2,70 (0,2137)	3,90±0,31 (0,7055)	18,38±1,42 (0,9397)
100	69,88±1,55 (0,1907)	3,75±0,57 (0,8589)	18,84±1,89 (0,8242)
200	63,44±1,33 (0,0702)	3,44±0,21 (0,5676)	17,84±1,72 (0,7751)
400	49,43±1,98 (0,0270)	3,57±0,11 (0,6256)	13,70±1,17 (0,0006)
Поколение F2: N=10			
0	70,44±1,33 (-)	3,78±0,31 (-)	18,48±0,32 (-)
50	70,11±1,70 (0,5202)	3,89±0,11 (0,6272)	18,30±1,67 (0,7239)
100	41,62±2,12 (0,0541)	3,00±0,16 (0,0094)	14,03±1,11 (0,0386)
200	37,88±1,35 (0,0012)	2,88±0,52 (0,0021)	13,15±2,07 (0,0141)
400	13,16±1,16 (0,0002)	1,50±0,11 (0,0026)	5,67±0,42 (0,0043)

Примечание. † Вероятность отличия от контроля. Жирным шрифтом – значимые отличия от контроля

и F2 (F2'). С применением теста Манна-Уитни был выявлен значимый токсический эффект у потомства дафний, культивируемых в среде с ПБО в концентрациях 100, 200 и 400 мкг/л. Анализ показал высокий коэффициент корреляции между показателями выживаемости дафний и метаболической активностью ($r = 0,67$ и $0,92$ соответственно для поколений F1 и F2), что указывало на то, что снижение выживаемости может быть связано с цитотоксическим действием вещества на тест-организм.

По результатам анализа плодовитости было установлено, что дафнии, культивируемые в среде с ПБО в концентрации 800 мкг/л, не способны производить жизнеспособное потомство. Плодовитость дафний в поколении F1 значимо снижалась при концентрации ПБО 400 мкг/л, а в поколении F2 при концентрации 100 мкг/л (рис. 2).

Данные по плодовитости в каждом поколении имели высокий коэффициент корреляции с нарушением митохондриальной активности у их потомства, измеренной МТТ-тестом. Коэффициенты корреляции составили $r = 0,58$ и $0,92$ соответственно для первого и второго поколений ракообразных, подвергавшихся воздействию.

Более детальный анализ компонентов общей плодовитости – размера и числа пометов на даф-

нию к концу эксперимента, выявил, что количество пометов значимо не изменяется ни в одной экспериментальной группе из поколения F1, но снижается количество новорожденных на помет начиная с концентрации 400 мкг/л (табл. 1). Снижение плодовитости в поколении F2 было связано как со снижением числа пометов, так и новорожденных на помет, значимых при концентрации ПБО от 100 мкг/л (табл. 1).

Для расчета полулетальной концентрации ЛК₅₀, вызывающей нарушение выживаемости и репродуктивного потенциала дафний, был проведен пробит-анализ [7]. Согласно полученным данным ЛК₅₀ пиперонил бутоксида для плодовитости дафний в поколении F1 составил 353 мкг/л, в поколении F2 – 194 мкг/л, для выживаемости в F1 – 650 мкг/л, в F2 – 200 мкг/л.

Из литературы известно, что в условиях многократного воздействия (21 сут) пиперонил бутоксида в дозах 100, 300 и 1000 мг/кг на кожу кроликов признаков интоксикации и летальных исходов не отмечалось. Наряду с этим наблюдалось проявление местного действия в виде эритемы на кожных покровах при воздействии в дозе 1000 мг/кг. При пероральном поступлении пиперонил бутоксида в организм собак в течение 8 недель в дозах 2000 и 3000 мг/кг наблюда-

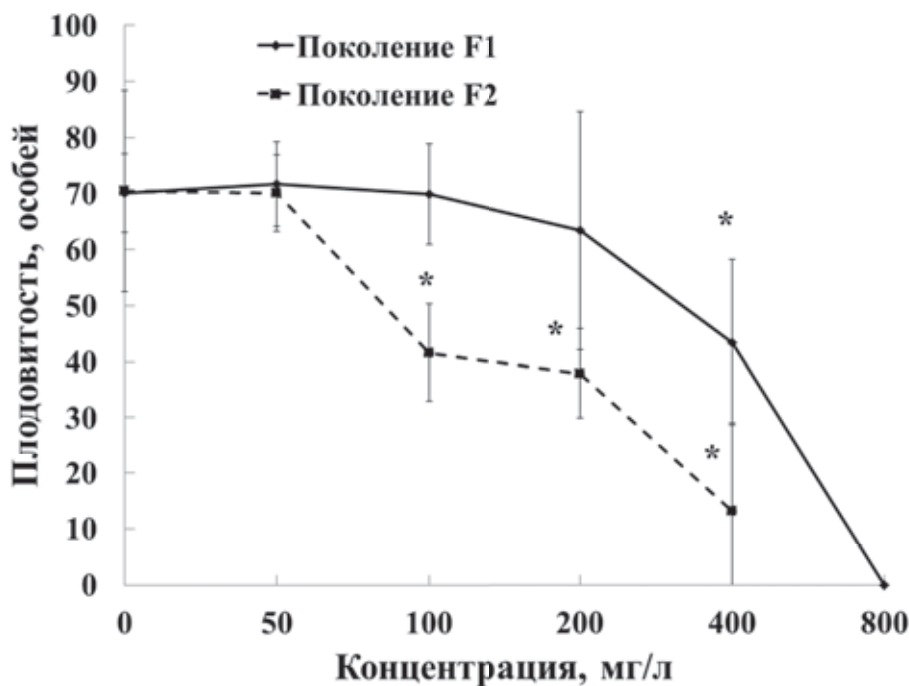


Рис. 2. Изменение плодовитости *D. magna* при культивировании в среде с пиперонил бутоксид в двух поколениях к 21-м сут эксперимента.

лось уменьшение потребления корма, снижение массы тела, повышение активности щелочной фосфатазы и увеличение массы печени [8 – 10]. Анализ литературы показал, что пиперонил бутоксид в дозах 300, 1000 и 5000 ppm (26,7; 89 и 445 мг/кг) действует на репродуктивную функцию крыс линии Sprague Dawley CD и снижает массу тела у животных в двух поколениях. Полулетальная доза для крыс по репродуктивной токсичности составила 1000 ppm (89 мг/кг) [11]. В другом исследовании использовали крыс Crj:Donryu. В корм животным в течение 28 сут добавляли ПБО в концентрациях 5000, 10000 или 20000 ppm (445, 890 и 1780 мг/кг). Концентрации 10000 и 20000 ppm (890 и 1780 мг/кг) вызвали увеличение печени и атрофические изменения в женских половых путях у крыс, что являлось результатом антиэстрогенной активности ПБО [12].

Известно, что механизм негативного действия пиперонил бутоксида основан на токсическом влиянии вещества на ферменты монооксигеназной системы. Оксигеназы – это ферменты, которые катализируют включение кислорода в молекулу субстрата. Они участвуют в синтезе и деградации многих типов метаболитов, входят в состав мультиферментных комплексов, встроенных в мембрану. Известно, что уровень активных форм кислорода может зависеть от функционирования изоформ цитохрома P450 и уровня экспрессии защитных ферментов: каталазы, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы. Например, показано, что ПБО в концентрации 500 мкг/л

вызывает оксидативный стресс, воздействуя на цитохром P450 в головном мозге тилэпии *Oreochromis niloticus* [13]. В другой работе обнаружено, что ПБО при воздействии на комара *Aedes albopictus*, находящегося в личиночной стадии жизненного цикла, индуцирует экспрессию гена CYP6N28 и ингибирует CYP6P15 и CYP6Y7 [14]. Примененный в нашем эксперименте МТТ-анализ позволил интегрально оценить цитотоксический эффект ПБО, суммарно отразив количество образующихся активных форм кислорода, инактивации сукцинатдегидрогеназ и других митохондриальных оксигеназ, соотношение живых и мертвых клеток и работу системы антиоксидантных ферментов. Поскольку полученные нами данные по выживаемости и плодовитости ракообразных *D. magna* коррелируют с данными по нарушению метаболической активности, можно предположить, что снижение демографических показателей у рачков связано с цитотоксическим эффектом ПБО, нарушающим активность ферментов оксигеназной системы.

Выводы: 1. Пиперонил бутоксид вызывает цитотоксический эффект, что является одной из возможных причин снижения выживаемости и плодовитости ветвистоусого рачка *Daphnia magna*.

2. Токсическая концентрация вещества во втором поколении снижалась более, чем в два раза по сравнению с первым, что может свидетельствовать о повышении чувствительности рачков во втором поколении».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рьльников В.А., Рьльников В.А., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Яковлев А.А., Бабич Н.В., Слудский А.А., Тарасов М.А., Тошигин Ю.В., Кадиров А.Ф.А. Управление численностью проблемных биологических видов: Учебное пособие / Под ред. В.А. Рьльников. – М.: Институт пест-менеджмента, 2011. Т. 2 – 169с.
2. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS). Comprehensive guide to the RTECS. Doris V. Sweet Ed. U.S. Department of health and human services, 1997. Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention National Institute for Occupational Safety and Health Cincinnati, Ohio 45226.
3. Онищенко Г.Г., Новиков С.М., Рахманин Ю.А., Авалиани С.Л., Буштуева К.А. Основы оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду / Под ред. Г.Г. Онищенко и Ю.А. Рахманина. – М.: ГУ НИИ ЭЧигГОС им. А.Н.Сысина РАМН, 2002 – 408 с.
4. Organisation for Economic Co-operation and Development, 2012. Test No. 211. *Daphnia magna* Reproduction Test. OECD Guideline for Testing of Chemicals, Paris, France. doi: 10.1787/20745761.
5. Cancer Cell Culture. Methods and Protocols. / Ed.I.A. Cree. Second ed. – Springer New York Dordrecht Heidelberg London: Human Press, 2011. P. 237–244.
6. Сарapultseva E.I. Прямые и отдаленные эффекты радиационного облучения простейших и ракообразных. Дис. д-ра биол. наук. – Обнинск: ИАТЭ НИЯУ МИФИ, 2015. – 218 с.
7. РД 64-085-89. МУ «Методические основы биотестирования и определения генетической опасности отходов, поступающих в окружающую среду». – М.: Мин-во медицинской промышленности, 1990.
8. Vardavas AI, Fragkiadaki P, Alegakis AK, Kouretas D, Goutzourelas N, Tsiaoussis J, Tsitsimpikou C, Stivaktakis PD, Carvalho F, Tsatsakis AM. Downgrading the systemic condition of rabbits after long term exposure to cypermethrin and piperonyl butoxide // *Life Sci.*, 2016. 145. P. 114-120. doi: 10.1016/j.lfs.2015.12.026.
9. Cox C. Piperonyl Butoxide // *Journal of pesticide reform*, 2002. V. 22, NO. 2. P. 12–20.
10. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification: 2009. IPCS. WHO Press, Geneva, 2010.
11. U.S. Dept. of Agriculture. Agricultural Marketing Service. Science and Technology Division. 2001. Pesticide data program: Annual summary calendar year 2000. Appendix E. p.39.
12. Hayashi S, Taketa Y, Inoue K, Takahashi M, Matsuo S, Irie K, Watanabe G, Yoshida M. Effects of pyperonyl butoxide on the female reproductive tract in rats // *J Toxicol Sci.*, 2013. 38 (6). P. 891-902.
13. Üner N, Piner P, Temiz Ö. Piperonyl butoxide increases oxidative toxicity of fenthion in the brain of *Oreochromis niloticus* // *J Biochem Mol Toxicol.*, 2014. 28 (2). P. 84-90. doi: 10.1002/jbt.21539.
14. Chan HH, Wajidi MF, Zairi J. Molecular cloning and xenobiotic induction of seven novel cytochrome P450 monoxygenases in *Aedes albopictus* // *J Insect Sci.*, 2014. 14:163. doi: 10.1093/jisesa/ieu025.

REFERENCES:

1. Ryl'nikov V.A. Upravlenie chislennost'yu problemnykh vidov: uchebnoe posobie [Numerical management of problematic species: Tutorial] / V.A. Ryl'nicov, A.N. Matrosov, A.A. Kuznetsov, A.A. Yakovlev, N.B. Babich, A.A. Sludski, M.A. Tarasov, Ю.В. Toshigin, А.Ф.А. Kadirov. – Moskva: Institut pest-menedzmenta, 2012. V. 2. 169 p. (in Russian).
2. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS). Comprehensive guide to the RTECS. Doris V. Sweet Ed. U.S. Department of health and human services, 1997. Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention National Institute for Occupational Safety and Health Cincinnati, Ohio 45226.
3. Onishenko G.G. Osnova ocenki riska dlya zdoroviya naseleniya pri vozdeystvii himicheskikh veshstv, zagryaznyayushnih sredu [Base on risk assessment to human health when exposed to environmental chemicals pollution] / G.G. Onishenko and U.A. Rakhmanin, ed. / G.G. Onishenko, S.M. Novikov, U.A. Rakhmanin, S.L. Avaliani, K.A. Bushtaev. – Moscow: Scientific-Research Institute of Human Ecology and Environmental Hygiene them. AN Sysina, 2002 – 408 p. (in Russian).
4. Organisation for Economic Co-operation and Development, 2012. Test No. 211. *Daphnia magna* Reproduction Test. OECD Guideline for Testing of Chemicals, Paris, France. doi: 10.1787/20745761.
5. Cancer Cell Culture. Methods and Protocols. / I.A. Cree, ed. – Springer New York Dordrecht Heidelberg London: Human Press, 2011. P. 237–244.
6. Sarapultseva E.I. Pryamye i otdalennyye efekty radiacionnogo oblucheniya prosteishih i rakoobraznykh. Dissertatsiya doktora biologicheskikh nauk [Direct and long-term effects of radiation exposure in protozoa and crustaceans. Dr. of Sciences dissertation]. – Obninsk: Institute of Nuclear Power Engineering NRNU MEPhI, 2015. – 218 p. (in Russian).
7. RD 64-085-89. MU "Metodicheskie osnovy biotestirovaniya i opredeleniya geneticheskoy opasnosti othodov, postupayushih v okruzaushuyu sredu" [Methodical bases of biological testing and to determine the genetic dangers of waste going into the environment]. – Moscow: Ministry of Medical Industry, 1990. 56 p. (in Russian).
8. Vardavas AI, Fragkiadaki P, Alegakis AK, Kouretas D, Goutzourelas N, Tsiaoussis J, Tsitsimpikou C, Stivaktakis PD, Carvalho F, Tsatsakis AM. Downgrading the systemic condition of rabbits after long term exposure to cypermethrin and piperonyl butoxide // *Life Sci.*, 2016. 145. P. 114-120. doi: 10.1016/j.lfs.2015.12.026.
9. Cox C. Piperonyl Butoxide // *Journal of pesticide reform*, 2002. V. 22, NO. 2. P. 12–20.
10. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification: 2009. IPCS. WHO Press, Geneva, 2010.
11. U.S. Dept. of Agriculture. Agricultural Marketing Service. Science and Technology Division. 2001. Pesticide data program: Annual summary calendar year 2000. Appendix E. p. 39.
12. Hayashi S, Taketa Y, Inoue K, Takahashi M, Matsuo S, Irie K, Watanabe G, Yoshida M. Effects of pyperonyl butoxide on the female reproductive tract in rats // *J Toxicol Sci.*, 2013. 38 (6). P. 891-902.
13. Üner N, Piner P, Temiz Ö. Piperonyl butoxide increases oxidative toxicity of fenthion in the brain of *Oreochromis niloticus* // *J Biochem Mol Toxicol.*, 2014. 28 (2). P. 84-90. doi: 10.1002/jbt.21539.
14. Chan HH, Wajidi MF, Zairi J. Molecular cloning and xenobiotic induction of seven novel cytochrome P450 monoxygenases in *Aedes albopictus* // *J Insect Sci.*, 2014. 14:163. doi: 10.1093/jisesa/ieu025.

N.I. Kolesnikova¹, A.O. Morozova¹, D.V. Uskalova¹, E.I. Sarapultseva^{1,2}

CHANGES IN REPRODUCTIVE POTENTIAL, SURVIVAL AND METABOLIC ACTIVITY IN TWO SUCCESSIVE GENERATIONS OF DAPHNIA MAGNA IN THE PIPERONYL BUTOXIDE MEDIUM

¹Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering, 249040 Obninsk, Kaluga region, Russian Federation

² National Research Nuclear University, 115409 Moscow, Russian Federation

Changes in survival, fertility and metabolic activity in two generations of crustacean *Daphnia magna* in the piperonyl butoxide medium (PBO) were analyzed in concentrations of 50 to 800 ug/ml in a 21 day experiment in each generation. Metabolism disorders were evaluated using the MTT-assay traditionally applied in vitro to analyze cytotoxicity of medications. The MTT-assay shows in an integral way the amount of oxygen active forms, inactivation of mitochondrial oxidases, ratio of living and dead cells and function of antioxidant enzymes. It was found out that in the first generation, the PBO concentration of 353 ug/l is semi-lethal to *Daphnia* fertility and to the *Daphnia* survival it is 650 ug/l. In the second generation the toxic concentration is two-fold lower and amounts to 194 ug/l to fertility and to 200 ug/l to survival. It was revealed that PBO poses the cytotoxic effect on *Daphnia*.

Keywords: *Daphnia magna*, piperonyl butoxide, cytotoxicity, survival, fertility.

Переработанный материал поступил в редакцию 22.09.2016 г.

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 592:615.9

МИКРООРГАНИЗМ *Komagataella* (*Pichia*) *Pastoris* ВКПМ У-4225

Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрябина¹, Л.И. Мясина¹, Е.В. Буданова²,
Л.П. Сазонова¹, В.В. Колесникова¹, Г.Г. Чуб¹

¹ФГБОУ 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

Микроорганизма *Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ У-4225. В соответствии с существующими законодательными нормативными документами для родственного в таксономическом плане штамма *Pichia membranifaciens* ВКМ-У-934 продуцента цитохрома С установлена ПДК на уровне 2×10^3 кл/м³, пометка А для рабочей зоны и на уровне 2×10^2 кл/м³, пометка А для атмосферного воздуха, что согласуется с рекомендованной величиной норматива для изучаемого штамма.

Ключевые слова: микроорганизм, токсичность, опасность.

Штамм *Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ У-4225 получен трансформацией фрагмента рекомбинентной ДНК, включающего ген фитазы ArrA2, в штамм-реципиент *Komagataella pastoris* ВКПМ У-3489. Предполагается использовать штамм в промышленном производстве фермента фитазы для кормовых целей.

Мезофил. Штамм растет на агаризованных средах – глюкозо-пептон-дрожжевом агаре (YPD), глюкозо-пептонном агаре (ГПА), глицерин-пептон-дрожжевом агаре (YPG), мясо-пептонном агаре (МПА), АГВ среде, картофельный агар (КА).

Рост очень хороший – через 24 часа при 25-28°С образует колонии на глюкозо-пептонном агаре (ГПА).

При росте на агаризованной среде образуются гладкие, круглые колонии с матовой поверхностью светло-кремового цвета, край неровный.

При росте в жидкой среде клетки образуют ровную интенсивную суспензию. Культура имеет характерный запах метилотрофных дрожжей.

На среде YPD штамм образует клетки округлой, слегка овальной формы размером 5-10 мкм, часть клеток имеет на своей поверхности почки или соединена с дочерними клетками.

Штамм *K. (Pichia) pastoris* депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером ВКПМ У-4225.

В процессе экспериментальных исследований было изучено влияние микроорганизма на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммуотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД) и обоснования ПДК_{п.з.} *K. pastoris* ВКПМ У-4225

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, ni_sheina@mail.ru

Скрябина 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,

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

Обследование экспериментальных животных показало, что воздействие штамма-продуцента в двух концентрациях (3×10^3 и 3×10^4 кл/м³) в течение 1 месяца не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось нами по динамике массы тела в процессе эксперимента и в восстановительном периоде. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии общего токсического действия штамма-продуцента на организм крыс в течение 1-го месяца его в изученных концентрациях.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что коэффициенты массы тимуса и селезенки экспериментальных животных при воздействии большей концентрации не различались с животными контрольной группы. В лейкограмме периферической крови подопытных животных выявлена тенденция увеличения общего количества лейкоцитов и увеличение числа эозинофилов в 2 раза у подопытных животных при воздействии штамма-продуцента при воздействии большей концентрации.

При оценке сенсибилизирующей активности штамма в эксперименте не выявлено формирования клеточной реакции замедленного типа (ГЗТ) на мышах. Тучноклеточная реакция немедленного типа (ГНТ) на крысах была показана при воздействии большой концентрации штамма.

Изучаемый микроорганизм не проявлял антигенной активности при используемом способе исследования на изучаемых уровнях воздействия. Не обнаружено образования специфических антимикробных антител (агглютининов) в сыворотке подопытных животных обеих групп.

В экспериментах на крысах ответ на эритроциты барана, оцениваемого по титрам гуморальных антител-гемагглютининов, был аналогичен таковому в контрольной группе животных, как по средним значениям, так и вариабельности показателя внутри группы.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне субхронического воздействия *K. pastoris* ВКПМ У-4225 в концентрации 3×10^3 кл/м³ не происходило значимого изменения (дисбаланса) микробиоценоза кишечника крыс. Наблюдалось увеличение лактозоположительных эшерихий, снижение числа стафилококков и дрожжеподобных грибов и

некоторое увеличение лактобактерий и бифидобактерий в фекалиях подопытных животных, что, возможно, связано со стимуляцией положительной аутофлоры кишечника.

При воздействии большей концентрации штамма наблюдалось увеличение числа условно-патогенной микрофлоры (стафилококков, энтеробактерий, грибов рода кандида), которое, по-видимому, не могло компенсироваться некоторой стимуляцией роста лактобактерий и бифидобактерий.

Коэффициент массы слепой кишки не различался у крыс контрольной и подопытных групп. В восстановительном периоде микрофлора кишечника крыс, подвергшихся воздействию микроорганизма в обеих концентрациях, по качественным и количественным показателям не отличался от таковых контрольных животных.

Штамм-продуцент при субхроническом воздействии в обеих концентрациях 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 лимитирующим критерием вредного действия микроорганизма на организм теплокровных животных являются сенсибилизирующий и дисбиотический эффекты.

С учетом коэффициента запаса 10 для воздуха рабочей зоны рекомендована для утверждения ПДК_{р.з.} *K. pastoris* ВКПМ У-4225 на уровне 3×10^3 кл/м³, пометка А.

С учетом коэффициента запаса 100 для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована для утверждения ПДК_{а.в.} *K. pastoris* ВКПМ У-4225 на уровне 3×10^2 кл/м³, пометка А.

В соответствии с существующими законодательными нормативными документами для родственного в таксономическом плане штамма *Pichia membranifaciens* ВКМ-У-934 продуцента цитохрома С установлена ПДК на уровне 2×10^3 кл/м³, пометка А для рабочей зоны и на уровне 2×10^2 кл/м³, пометка А для атмосферного воздуха, что согласуется с рекомендованной величиной норматива для изучаемого штамма.

Разработаны методы микробиологического определения штамма *K. pastoris* ВКПМ У-4225 в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. Мет. рекомендации РГМУ, М., 1992. – 22с.

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. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. №5789/1-91.- М., 1991. – 22с.

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).

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

MICROORGANISM *BACILLUS KOMAGATAELLA (PICHIA) PASTORIS* ВКПМ Y-4225

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

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

Hazard and toxicity assessment of the microorganism *Bacillus Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ Y-4225 was performed. In accordance with legislative regulatory documents in force for its congener in taxonomic aspect of cytochrome C producer strain *Pichia membranifaciens* ВКПМ Y-934, MAC_{occupational air} on the level of 2x10³ cells/m³ mark A and MAC_{atmospheric air} on the level of 2x10² cells/m³ mark A in residential settings are recommended for the microorganism *Bacillus Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ Y-4225.

Keywords: microorganism, toxicity, hazard.

Материал поступил в редакцию 29.02.2016 г.

НЕКРОЛОГ

ПАМЯТИ ЮРИЯ ИЛЬИЧА КУНДИЕВА



17 января 2017 г., в Киеве, на 90-м году жизни скончался Юрий Ильич Кундиев – советский и украинский учёный в области гигиены труда, профессор, член-корреспондент АМН СССР и РАН, Вице-президент АМН Украины, советник Президиума НАН Украины, член комитета экспертов ВОЗ по профессиональному здоровью. Почётный член Чехословацкого медицинского общества им. Я. Пуркине.

Ю.И. Кундиев родился 2 октября 1927 г. в селе Трояны Добровеличковского района Кировоградской области. В 1951 г. окончил санитарно-гигиенический факультет Киевского медицинского института им. Акад. А.А. Богомольца.

После окончания аспирантуры по специальности «Физиология труда» в Киевском НИИ гигиены труда и профзаболеваний Ю.И. Кундиев навсегда связал свою судьбу с этим институтом. В 1955 году защитил кандидатскую диссертацию и включился в разработку проблемы токсикологии и гигиены применения пестицидов, возглавив лабораторию индивидуальных защитных приспособлений. В 1963 г. Ю.И. Кундиев был утвержден в должности заместителя директора института по научной работе, а с 1964 г. – возглавил институт. В 1967 году защитил докторскую диссертацию на тему «Гигиеническое значение проблемы всасывания фосфорорганических пестицидов через кожу». В 1969 г. ему было присво-

ено звание профессора, а в 1977 г. – «Заслуженный деятель науки УССР». В 1974 г. был избран членом-корреспондентом АМН СССР, а в 1979 г. – академиком АН УССР.

Ю.И. Кундиев был ученым-гигиенистом с широкой мировой известностью. Направления его научных исследований охватывали наиболее актуальные проблемы, основными среди которых были: гигиена и физиология труда, токсикология пестицидов и их безопасное использование, комбинированное действие факторов производственной среды, изучение профессионального риска здоровью, гигиенические проблемы ликвидации последствий аварий на Чернобыльской АЭС.

Ю.И. Кундиевым опубликовано около 600 научных работ, среди которых монографии, руководства и учебники. Под его руководством и при консультации подготовлено и успешно было защищено более 50 докторских и кандидатских диссертаций.

Ю.И. Кундиев являлся членом Постоянного Комитета экспертов ВОЗ по безопасному применению пестицидов, членом бюро Европейского форума по биоэтике.

Всероссийская общественная организация токсикологов, редакция журнала «Токсикологический вестник», ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора скорбят и выражают соболезнование родным, близким и коллегам Юрия Ильича Кундиева.