

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



Российский регистр потенциально опасных

химических и биологических веществ

Научно-практический журнал

Издается с июля 1993 года, выходит 1 раз в 2 месяца

№5 (158), 2019

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Х.Х. Хамидулина

КОЛОНКА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА..... 2

Б.Б. Яцинюк, Ю.Н. Остапенко, С.А. Васильев, Е.Е. Бебякина, П.П. Гавриков, А.М. Лаптев

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ МЕТИЛОВОГО СПИРТА, ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ В СТРУКТУРЕ ХИМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ НА ТЕРРИТОРИИ ХМАО-ЮГРА И РАЗВИТИЕ СИНДРОМОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ ДАННЫХ НОЗОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМАХ БОЛЕЗНИ..... 3

Б.А. Кацнельсон, М.П. Сутункова, Л.К. Коньшева, С.Н. Соловьева, И.А. Минигалиева, В.Б. Гурвич, Л.И. Привалова
МНОГОКАМЕРНАЯ МОДЕЛЬ КАК ИНСТРУМЕНТ АНАЛИЗА ТОКСИКОКИНЕТИЧЕСКОЙ РОЛИ РАСТВОРЕНИЯ ЭЛЕМЕНТО-ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ И ФАГОЦИТАРНОЙ РЕАКЦИИ НА ИХ ОТЛОЖЕНИЕ В ЛЁГКИХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ..... 12

Д.С. Лаптев, С.Г. Петунов, О.В. Нечайкина, Д.В. Бобков
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИЗОЛИРОВАННОГО МИОКАРДА КРЫСЫ ПОСЛЕ КУРСОВОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДИОКТИЛТЕРЕФТАЛАТА..... 21

С.И. Сычик, В.М. Васильевич, Р.В. Богданов, Л.М. Бондаренко, А.В. Буйницкая

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ 3-ХЛОРПРОПИЛ И 6-ХЛОРГЕКСИЛАКРИЛАТОВ С ОБОСНОВАНИЕМ ОБУВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ..... 26

Н.А. Белякова, Е.Ю. Бонитенко, А.В. Носов
ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПЕПТИДОВ НА НАРУШЕНИЯ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА У КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ МОРФИНОМ..... 33

З.А. Шафигуллина, И.Г. Данилова, И.Ф. Гетте, В.Г. Сенцов, М.Т. Абидов
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ АМИНОФТАЛГИДРАЗИДА НА КЛЕТКИ ПЕЧЕНИ ПРИ ДИФфуЗНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ..... 39

М.Е. Шемаев, А.М. Малов, В.К. Сибиряков, Р.К. Глушков
ОСОБЕННОСТИ ЭЛИМИНАЦИИ СВИНЦА У КРЫС ПРИ ЕГО ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ..... 45

Т.А. Кострова
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ И АПОПТОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОГО ТЯЖЕЛОГО ОТРАВЛЕНИЯ ТИОПЕНТАЛОМ НАТРИЯ..... 49

□ Экологическая токсикология

Е.А. Чигринский

ТИРЕОИДНЫЙ СТАТУС МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПИРЕТРОИДА ЦИПЕРМЕТРИНА..... 54

□ Химическая безопасность

НОВОСТИ О ХОДЕ ПОДГОТОВКИ ДОКУМЕНТОВ ВТОРОГО УРОВНЯ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ ТР ЕАЭС «О БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ» (041/2017)..... 60

Kh.Kh. Khamidulina

FROM THE EDITOR-IN-CHIEF..... 2

B.B. Yatsinyuk, Yu.N. Ostapenco, S.A. Vasil'ev, E.E. Bebyakina, P.P. Gavrikov, A.M. Laptev

MORBIDITY ASSOCIATED WITH THE TOXIC EFFECT OF METHYL ALCOHOL AND ETHYLENE GLYCOL IN THE STRUCTURE OF CHEMICAL TRAUMA IN THE TERRITORY OF KHMAO-YUGRA AND THE DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL INSUFFICIENCY SYNDROMES IN THESE NOSOLOGICAL FORMS OF THE DISEASE..... 3

B.A. Katsnelson, M.P. Sutunkova, L.K. Konysheva, S.N. Solovyeva, I.A. Minigalieva, V.B. Gurvich, L.I. Privalova
MULTI-CHAMBER MODEL AS AN INSTRUMENT FOR ANALYSIS OF THE TOXICOKINETIC ROLE OF SOLUBILITY OF ELEMENT OXIDE NANOPARTICLES AND PHAGOCYTTIC REACTION TO THEIR DEPOSITION IN LUNGS IN CHRONIC INHALATION EXPOSURE..... 12

D.S. Laptev, S.G. Petunov, O.V. Nechaykina, D.V. Bobkov
FUNCTIONAL PARAMETERS OF ISOLATED RAT MYOCARDIUM AFTER THE COURSE OF DIOCTYL TEREPHTHALATE..... 21

S.I. Sychik, V.M. Vasilkevich, R.V. Bogdanov, L.M. Bondarenko, A.V. Bujnickaja

STUDY OF THE TOXIC PROPERTIES OF 3-CHLOROPROPYL AND 6-CHLOROHEXYL ACRYLATES WITH JUSTIFICATION OF APPROXIMATELY SAFE LEVEL OF EXPOSURE IN THE AIR OF THE WORKING AREA..... 26

N.A. Belyakova, E.Yu. Bonitenko, A.V. Nosov
NEUROPEPTIDES EFFECTS ON RAT ESTROUS CYCLE DISORDERS CAUSED BY MORPHINE..... 33

Z.A. Shafigullina, I.G. Danilova, I.F. Gette, V.G. Sencov, M.T. Abidov
IMMUNOMODULATING EFFECT OF AMINOPHTHALHYDRAZIDE ON LIVER CELLS WITH DIFFUSE TOXIC DAMAGE..... 39

M.E. Shemaev, A.M. Malov, V.K. Sibiryakov, R.K. Glushkov
FEATURES OF LEAD ELIMINATION IN RATS FOR ITS PARENTERAL ADMINISTRATION..... 45

T.A. Kostrova
EXPERIMENTAL EVALUATION OF CHANGES IN NEUROTROPIC AND APOPTOTIC FACTORS IN THE IMPLEMENTATION OF LONG-TERM CONSEQUENCES OF ACUTE SEVERE POISONING BY SODIUM THIOPENTAL..... 49

□ Ecotoxicology

E.A. Chigrinski

THYROID STATUS IN MOUSE-LIKE RODENTS UNDER THE INFLUENCE OF SYNTHETIC PYRETHROID CYPERMETHRIN..... 54

□ Chemical Safety

NEWS ON THE PREPARATION OF SECOND LEVEL DOCUMENTS FOR THE IMPLEMENTATION OF THE EAEU TR «ON THE SAFETY OF CHEMICAL PRODUCTS» (EAEU TR 041/2017)..... 60

Уважаемые коллеги!

В этом номере журнала мы публикуем статьи победителей конкурса работ молодых ученых и специалистов, проведенного с 10 октября 2018 г. по 15 июня 2019 г.

Вы сможете ознакомиться с работами призеров по следующим номинациям:

«**Лучшая работа в области профилактической токсикологии**» – статья Шемаева М.Е. «Особенности элиминации свинца у крыс при его парентеральном введении»;

«**Лучшая работа в области клинической токсикологии**» – статья Костровой Т.А. «Экспериментальная оценка изменений нейротрофических и апоптотических факторов в реализации отдаленных последствий острых тяжелых отравлений нейротоксикантами (экспериментальное исследование)» ;

«**Лучшая работа в области лекарственной токсикологии**» – статья Шафигуллиной З.А. «Иммуномодулирующее влияние аминофталгидразида на клетки печени при диффузном токсическом повреждении»;

«**Лучшая работа в области экологической токсикологии**» – статья Чигринского Е.А. «Тиреоидный статус мышевидных грызунов при воздействии синтетического пиретроида циперметрина».

Работы остальных участников конкурса будут опубликованы в последующих номерах журнала.

Журнал «Токсикологический вестник» всегда рад сотрудничеству с молодыми учеными и специалистами, аспирантами и студентами.

Главный редактор Х.Х. Хамидулина

УДК 615.9:547.261

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ МЕТИЛОВОГО СПИРТА, ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ В СТРУКТУРЕ ХИМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ НА ТЕРРИТОРИИ ХМАО-ЮГРА И РАЗВИТИЕ СИНДРОМОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ ДАННЫХ НОЗОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМАХ БОЛЕЗНИ

Б.Б. Яцинюк¹, Ю.Н. Остапенко²,
С.А. Васильев³, Е.Е. Бебякина⁴,
П.П. Гавриков¹, А.М. Лаптев¹

¹БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия». Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», 628011, г. Ханты-Мансийск, Российская Федерация

²ФГБУ НПТЦ ФМБА России. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-практический токсикологический центр федерального медико-биологического агентства» России, 129090, г. Москва, Российская Федерация

³ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴Бюджетное учреждение Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Окружная клиническая больница», 628012, г. Ханты-Мансийск, Российская Федерация

Анализ динамики заболеваемости при токсическом действии (отравлении) веществ в группах Т51-Т52 в Ханты-Мансийском автономном округе – Югра, как и в других регионах России, имеет важное социальное значение, по причине высокой летальности в данных группах на территории России. Проведенное исследование эпидемиологических данных на основе отчетной формы № 64 показало, что уровень заболеваемости при остром отравлении метиловым спиртом и этиленгликолем не превышает 4,0 на 100 тыс. населения. Число летальных исходов в группах Т51-Т52 за 10 лет составило наибольшее количество (47,0%) нежелательных исходов, при этом токсическое действие метанола и этиленгликоля в группах Т51-Т52 отмечено в 5,3% случаях. Оценка функциональной недостаточности систем в токсикогенный период при поступлении метилового спирта и этиленгликоля в организм пострадавших позволяет определить тяжесть состояния, с целью выбора тактики проведения мероприятий интенсивной терапии пострадавшим. Ведущими условиями выживаемости пострадавших являлись: сочетанность приема токсикантов с этиловым спиртом, непродолжительный период без оказания медицинской помощи. Выполнение необходимых медицинских услуг при острых отравлениях должно проводиться с учетом регламентированных критериев качества оказания медицинской помощи.

Ключевые слова: токсическое действие, отравление, метиловый спирт, этиленгликоль, этиловый спирт.

Яцинюк Борис Борисович (Yatsinyuk Boris Borisovich), кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой анестезиологии-реаниматологии, скорой медицинской помощи и клинической токсикологии БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», tocsboris@mail.ru
Остапенко Юрий Николаевич (Ostapenko Yuri Nikolayevich), к.м.н., руководитель отдела ФГБУ НПТЦ ФМБА России, ведущий научный сотрудник отделения лечения отравлений ГБУЗ г. Москвы НИИ им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы, доцент, главный токсиколог Минздрава России, член Правления Всероссийской общественной организации токсикологов, член Европейской ассоциации токсикологических центров и клинических токсикологов, заслуженный врач РФ
Васильев Сергей Анатольевич (Vasil'ev Sergey Anatolyevich), д.м.н., профессор кафедры токсикологии, экстремальной и водолазной медицины Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова
Бебякина Елена Евгеньевна (Bebyakina Elena Evgenievna), врач анестезиолог-реаниматолог БУ ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница»
Гавриков Павел Павлович (Gavrikov Pavel Pavlovich), ассистент кафедры анестезиологии-реаниматологии, скорой медицинской помощи и клинической токсикологии БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»
Лаптев Алексей Михайлович (Laptev Alexey Michailovich), ассистент кафедры анестезиологии-реаниматологии, скорой медицинской помощи и клинической токсикологии БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»

Введение. Острые отравления (токсическое действие) алкоголем в Российской Федерации из группы неинфекционных болезней в начале 90-х гг. давали наибольший прирост смертности населения [1,2,3]. На заседании экспертного совета, комитета Совета Федерации по социальной политике и здравоохранению в 2011 г. было отмечено, что потребление алкоголя на душу населения за последние пять лет увеличилось с 9,3 литров чистого этанола до 10,5 литров. В 2011 г. удельный вес госпитализаций в медицинские организации России пациентов с токсическим действием алкоголя составил в среднем 30,7%. В структуре острых отравлений в Свердловской области за 2010-2014 гг. токсическое действие спиртосодержащей продукции составило 21,2% [4]. Данные рейтинга трезвости российских регионов от 27.11.2017 показывают наименьшее употребление алкоголя в Чеченской республике и наибольшее в Магаданской области. Ханты-Мансийский автономный округ находится на 35 месте среди 85 регионов.

Материалы, приведенные в Федеральных клинических рекомендациях [1,2] и других источниках [4,5,6], показывают соотношение смертности от острого отравления этиловым алкоголем и другими спиртами в РФ за 2012 г., где число случаев острых смертельных отравлений этанолом на 100 тыс. населения составило 14,8 (в 2005 г. – 36,1), а в группе других спиртов 1,4 на 100 тыс. населения (в 2005 г. – 2,1). Динамика распространенности отравлений спиртосодержащей продукцией в Свердловской области 2010-2014 гг. – составило от 31,0 до 35,0 на 100 тыс. населения [1,4]. По данным ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора за период 2011-2015 гг. отравления спиртосодержащей продукцией составило 32,1% [7], в ХМАО-Югре за 2011-2015 гг. от 26,1 до 32,9% среди всех отравлений [5,6]. В среднем по РФ больничная летальность при отравлении этанолом составляет 3,0%, метанолом – 17,7%, высшими спиртами – 12,4%, растворителями и хлорированными углеводородами – 6,5% [1,2]. Массовые отравления метанолом в 1998 году наблюдались в Сербии с летальным исходом у 43 человек. В 2012 году в Чехии неблагоприятный исход наблюдался у 16 человек, единичные случаи токсического действия алкоголя наблюдались в Польше и Словакии. По данным Госслужбы (2016) по вопросам безопасности пищевых продуктов и защиты потребителей на Украине зарегистрирован 131 случай отравления суррогатным алкоголем.

Из анализа литературных источников следует, что отравления спиртами и растворителями являются значимой социальной проблемой [1,2,4], а высокий процент летальности и смертности, особенно при отравлении метиловым спиртом

[8], показывает важность рассмотрения нозологических форм заболеваемости как в эпидемиологическом направлении исследования, так и в течении клинических проявлений. Учитывая вышеизложенное, целью исследования является анализ заболеваемости при острых отравлениях метиловым спиртом и этиленгликолем, частота развития недостаточности функциональных систем и летальных исходов.

Материалы и методы исследования. Анализ числа отравлений в группах Т51-Т52 проведен по данным отчетной формы № 64 – Отчет центра (отделения) острых отравлений (на территории) [9] и 130 медицинских карт стационарных больных, поступивших в медицинские организации ХМАО-Югры за 2007-2016 гг., в картах анализировались: возраст, пол, время от момента употребления токсиканта до оказания медицинской помощи; клинические проявления – нарушения функций систем организма и оценка тяжести состояния пострадавших (легкое, средней тяжести и тяжелое отравление метиловым спиртом и этиленгликолем классифицировали по ФКР); определялся уровень токсикантов в биосредах организма.

Результаты и обсуждение. Необходимо отметить, что в соответствии с МКБ 10 пересмотра рубрикация групп Т36-50 обозначается как острые отравления, а Т51-65 обозначается как токсическое действие [10], однако, в данной статье мы будем использовать общепринятый врачами клинический термин – отравление. По результатам десятилетнего изучения динамики острых отравлений в ХМАО-Югре за 2007-2016 гг. можно констатировать наибольшую заболеваемость острой химической травмой в 2013 г. и уменьшение числа пострадавших с 2014 г. В 2007 г. отравления у детей от общего числа пострадавших составили 15,0%, в 2016 г. – 32,4%. Динамика общей заболеваемости острыми отравлениями и заболеваемости в возрастных группах на территории ХМАО-Югры (2007-2016 гг.) представлена в таблице 1.

Острые отравления медикаментами и биологическими веществами (Т36-Т50) в структуре отравлений за исследуемый период в среднем составили 46,7 на 100 тыс. населения (табл. 1), а в группе токсического действия веществ преимущественно немедицинского назначения (Т51-Т65) 64,7 на 100 тыс. населения. Таким образом, число острых отравлений в группе – вещества преимущественно немедицинского назначения превышают на 72% число пострадавших в группе отравления медикаментами и биологическими веществами, что отражает актуальность исследований.

Структура острых отравлений в зависимости от причин в 2007-2016 гг. представлена в таблице 2. Общее количество преднамеренных отравлений

Таблица 1

Структура заболеваемости острыми отравлениями в возрастных группах на территории ХМАО-Югры (2007-2016 гг.)

Год	Дети/взрослые	Общая заболеваемость	Медикаменты и биологические вещества (Т36 - Т50)	Вещества преимущественно немедицинского назначения (Т51 - Т65)
2007	224/1270	1494	556	938
2008	312/1352	1664	703	961
2009	365/1445	1810	820	990
2010	452/1461	1913	697	1216
2011	497/1372	1869	851	1045
2012	557/1531	2088	822	1266
2013	588/1553	2141	949	1192
2014	426/1255	1681	724	957
2015	482/1037	1519	745	774
2016	453/947	1400	519	881
Всего	4356/13223	17579	7386	10220

Таблица 2

Структура острых отравлений в зависимости от причин в 2007-2016 гг.

Год	Количество случайных	Количество преднамеренных	из них с целью опьянения		
			Употребление алкоголя	% от преднамеренных отравлений	на 100 тыс. населения
2007	286	1208	671	55,6	44,6
2008	406	1258	702	55,8	44,9
2009	446	1352	739	54,7	46,9
2010	543	1364	764	56,0	49,1
2011	582	1286	502	49,0	31,8
2012	629	1459	734	50,3	46,3
2013	597	1542	530	34,4	33,3
2014	574	1007	497	49,4	31,0
2015	476	1043	397	38,1	24,5
2016	387	1013	512	50,5	31,3
Всего	4926	12532	6048	51,7	37,8

на территории округа за десятилетний период превышает число случайных на 39,2%, в среднем составляя 79,4 на 100 тыс. населения (случайные – 31,1 на 100 тыс.). В группу преднамеренных отравлений входит острая экзогенная интоксикация, возникшая в результате наркотического, алкогольного, лекарственного опьянения и прерывания беременности. Ежегодно в данной группе доминируют отравления, возникшие при употреблении алкоголя (как правило, при приеме крепкого алкоголя), которое составило 48,3% от преднамеренных, в среднем составляя 38,8 на 100 тыс. населения за 2007-2016 гг. Динамика количества отравлений за 2007-2016 гг.

в группе Т51 (табл. 3) показывает, что наибольшее число случаев химической травмы приходится на 2009 г., 787 случаев (49,9 на 100 тыс. населения, наименьшее в 2016 г. – 31,08). В среднем за исследуемый период отравления алкоголем (Т51) составили 39,4 на 100 тыс. населения (6299 случаев).

Динамика отравлений в группе Т51 за 2007-2016 гг. представлена в таблице 3.

Химическая травма в нозологической группе Т51 и Т52 за 2007-2016 гг. представлена в табл. 4. В группу Т51 входят: отравления этиловым алкоголем, изопропиловым и метиловым спиртами, фальсифицированными алкогольными напитками

Таблица 3

Динамика отравлений в группе Т51 за 2007-2016 гг.

Год	Количество пострадавших	Количество на 100 тыс. населения	% от общего числа пострадавших за год
2007	708	47,1	47,4
2008	717	45,9	43,1
2009	787	49,9	43,5
2010	777	49,9	40,6
2011	580	36,7	31,0
2012	687	43,4	32,9
2013	637	40,0	29,7
2014	497	31,0	29,5
2015	397	24,5	26,1
2016	512	31,3	36,6
Всего	6299	среднее за 10 лет - 39,5	среднее за 10 лет - 36,0

Таблица 4

Структура отравлений в группе Т51 и Т52 за 2007-2016 гг.

Год	Количество отравлений в нозологической группе		Метиловый спирт	Количество на 100 тыс. населения	Этиленгликоль	Количество на 100 тыс. населения
	Т51	Т52				
2007	708	7	1	0,07	-	-
2008	717	18	6	0,4	7	0,4
2009	787	17	12	0,8	4	0,2
2010	777	34	9	0,6	5	0,3
2011	580	29	5	0,3	5	0,3
2012	687	46	5	0,3	12	0,8
2013	637	37	4	0,2	15	0,9
2014	497	42	9	0,6	5	0,3
2015	397	24	6	0,4	6	0,4
2016	512	24	8	0,5	6	0,4
Всего	6299	278	65	4,0	65	4,0

ми, другими спиртами и спиртами неуточненными [10]. Отравления метиловым спиртом за десятилетний период констатированы в 65 случаях, что составило 1,1% в группе Т51 (4,0 на 100 тыс. населения).

В группу Т52 входят: нефтепродукты (бензин, керосин, эфиры и масла), бензол и его гомологи, гликоли, кетоны и другие неуточненные органические растворители [МКБ 10]. Отравления этиленгликолем за десятилетний период наблюдалось в 65 случаях – 23,4% в группе Т52 (4,0 на 100 тыс. населения за 10 лет). Наибольший процент от общего количества заболевших за год, после употребления метилового спирта отмечен в 2009 г. – 0,7%, наименьший в 2007 г. – 0,1%; этиленгликоля в 2013 г. – 0,7%, наименьший в 2009 г. – 0,3%.

Клиническая диагностика отравлений и определение тяжести состояния вместе с дозой поступившего токсиканта и периодом от момента поступления токсиканта до начала оказания медицинской помощи имеет определяющее значение в диагностике, анализе течения острой химической травмы и ее исходе [8,11]. Из 65 случаев химической травмы легкая степень отравления метиловым спиртом отмечена у 15,5%, средняя – 43,0%, тяжелая в 41,5% случаев. Распределение отравлений метиловым спиртом по тяжести течения (2007-2016 гг.) представлено в таблице 5.

При анализе историй болезни пациентов с отравлением метанолом невозможно было установить точную дозу принятого токсиканта, но при проведении токсико-химического анализа бы-

Таблица 5

Распределение отравлений метиловым спиртом по тяжести течения (2007-2016 гг.)

Год	Количество травлений метиловым спиртом	Тяжесть состояния		
		Легкая степень	Средней тяжести	Тяжелой степени
2007	1	-	1	-
2008	6	1	3	2
2009	12	1	9	2
2010	9	2	4	3
2011	5	-	-	5
2012	5	2	2	1
2013	4	2	1	1
2014	9	1	4	4
2015	6	1	2	3
2016	8	-	2	6
Всего	65	10	28	27

ло отмечено, что при более чем в 70% отравлений легкой степени в биосредах организма был определен этиловый алкоголь в крови от 0,6‰ до 1,2‰. При средней степени в 20 случаях (71,5%) этиловый алкоголь обнаружен в крови на уровне, не превышающим более чем 0,7‰. Таким образом, наличие тех или иных концентраций этилового алкоголя в крови при острых отравлениях метиловым спиртом и этиленгликолем могут повлиять на исход отравления по причине конкурентного связывания этанола с алкогольдегидрогеназой [1,12].

В клинической симптоматике у 10 пациентов при поступлении с острым отравлением легкой степени преобладали симптомы общей интоксикации – опьянение, напоминающее обычное «этаноловое», с последующим сном более 11 часов. У 30% пациентов группы отмечено: недомогание, общая слабость, головокружение, головная боль, тошнота. Продолжительность вышеперечисленных симптомов не превышала 4 дней. Уровень метилового спирта в крови и в моче у пациентов группы был не более 0,2‰ (0,13±0,01) и 0,12‰ (0,07±0,01), соответственно анализируемым биосредам.

У всех 28 пациентов, составивших группу средней степени тяжести, наблюдался период мнимого благополучия (скрытый период) с продолжительностью от 12 до 24 часов и последующим развитием клинических симптомов – мышечная слабость и умеренная болезненность в области икроножных мышц; симптомов, характерных для токсического гастрита (тошнота, рвота, боли в эпигастральной области), токсической энцефалопатии – умеренное оглушение – отмечено у 7 пострадав-

ших (25% в группе), токсической офтальмопатии – диплопия, мидриаз, нечеткое видение, снижение остроты зрения и реакции зрачков на свет, которые были обратимыми повреждениями сетчатки глаза и зрительного нерва, с восстановлением зрительных функций в течение 16 суток от момента воздействия яда. Развивался метаболический ацидоз (7,18±0,02). Уровень метилового спирта в крови и в моче у пациентов группы был не более 0,4‰ (0,23±0,02) и 0,6‰ (0,45±0,02), соответственно. Наиболее длительно сохранялись явления энцефалопатии с длительной астенизацией.

При тяжелой степени у 27 пациентов при поступлении в медицинскую организацию отмечалась острая церебральная недостаточность, токсическая энцефалопатия (глубокое оглушение – 8 пострадавших, сопор – 5, кома – 14), развившаяся после непродолжительного скрытого периода (не более 4-5 часов), с развитием психомоторного возбуждения (у 9 пациентов (33,4% в группе), зрительные и слуховые галлюцинации (у 4 пациентов, 14,9% в группе) и судорожный синдром (у 12 пациентов, 44,5% в группе), менингеальные симптомы и патологические пирамидные знаки (у 9 пациентов, 14,9% в группе), мидриаз. Декомпенсированный метаболический ацидоз был продолжителен и составил 19,38±0,30 ч; а степень ацидемии достигала 7,06±0,04 (с размахом колебаний pH от 6,24 до 7,19) и проявлялась ацидотическим дыханием, акроцианозом. Развитие тяжелого состояния сопровождалось нарушениями функций органов и систем и экзотоксическим шоком (n=20) с кардио- и гемодинамическими нарушениями: гипотензия АД сист., диаст. 107,3±2,2 мм рт.ст., 54,3±1,0 мм рт.ст., соот-

ветственно (n=20), гипертензия АД сист., диаст. 165,1±1,8 мм рт.ст., 75,1±1,1 мм рт.ст. соответственно (n=7); тахикардия 118±1,7 мин⁻¹ (n=21) брадикардия 52±2,7 мин⁻¹ (n=6), возникающими на фоне гиповолемии, гипоксемии, гипоксии, неспецифических изменений в миокарде.

Полиорганная недостаточность с летальным исходом в течение первых суток с момента употребления токсиканта наблюдалась у 16 (59,3%) пациентов группы. В более поздние сроки – 2-3 сутки, на фоне центральных нарушений дыхания, декомпенсации кровообращения, токсической гепатопатии (I-II ст.), нефропатии (I-II ст.), отека легких и головного мозга и ДВС-синдрома наблюдался летальный исход. Уровень метилового спирта при поступлении в крови и в моче у пациентов группы был не более 1,7‰ (1,46±0,02) и 2,0‰ (1,61±0,03), соответственно.

Распределение отравлений этиленгликолем по тяжести течения (2007-2016 гг.) представлено в таблице 6.

При анализе медицинских карт пациентов с отравлением этиленгликолем также невозможно было установить точную дозу принятого токсиканта, но было отмечено, что при более чем в 30% отравлений в биосредах организма был определен этиловый алкоголь в крови от 0,7‰ до 2,3‰, что в некоторых случаях [1;12] могло повлиять на исход отравления. Временной период от момента поступления токсиканта до оказания медицинской помощи при легкой степени токсического действия составил от 3 до 5 часов, средней степени – 4-10 ч и тяжелой от 7 до 20 ч.

Также как при отравлении метиловым спиртом, при поступлении в организм этиленгликоля выделяют периоды: начальный, скрытый, выраженных клинических проявлений и последствий

(выздоровления, осложнений) [8,11]. Особенности течения начального и скрытого периода острого отравления этиленгликолем во многом определяли позднее обращение пострадавших за оказанием медицинской помощи, что осложняло диагностику, а консультации с токсикологом были отсрочены (2-3-и сутки).

При отравлении этиленгликолем легкой степени у 13 пациентов (табл. 6) отмечалось неглубокое опьянение, симптомы общей интоксикации и токсического гастрита, у 4 пострадавших (30,8%) отмечена токсическая нефропатия I степени. При отравлении средней степени тяжести (37 пострадавших) наблюдалась токсическая энцефалопатия (двигательное и психомоторное возбуждение, нарушение сознания до умеренного оглушения), компенсированный метаболический ацидоз, токсическая нефропатия I-II степени, гепатопатия I степени и гастроэнтерит. Острая интоксикация у 15 пострадавших тяжелой степени характеризовались нарушениями уровня сознания до сопора – 7 и комы I-II ст. – 8 поступивших, судорожный синдром и миофибрилляции отмечены в 100% случаях. Развивалась токсическая гепато-нефропатия II-III степени, декомпенсированный метаболический ацидоз (рН 7,02±0,06, РаСО₂ 23,2±0,78 мм рт.ст.), острая дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность, гипокальциемия – 1,76±0,11 ммоль/л и гиперкалиемия – 5,52±0,11 ммоль/л, гипомагниемия – 0,53±0,05 ммоль/л, гипернатриемия – 149±0,65 ммоль/л. ДВС-синдром отмечен у 11 пациентов (73,4%) группы. Следует отметить, что основой острой почечной недостаточности явился развившийся двухсторонний парциальный или тотальный корковый и тубулярный некроз. Летальность при отравлениях в группах T51 и T52

Таблица 6

Распределение отравлений этиленгликолем по тяжести течения (2007-2016 гг.)

Год	Отравление этиленгликолем	Тяжесть состояния		
		Легкая степень	Средней тяжести	Тяжелой степени
2007	-	-	-	-
2008	7	1	6	-
2009	4	1	2	1
2010	5	1	3	1
2011	5	-	3	2
2012	12	2	8	2
2013	15	3	8	4
2014	5	2	1	2
2015	6	2	3	1
2016	6	1	3	2
Всего	65	13	37	15

Таблица 7

Летальность при отравлениях в группах Т51 и Т52 и в нозологических формах отравлений метиловым спиртом и этиленгликолем за 2007-2016 гг.

Год	Число летальных исходов за год при всех отравлениях	Число летальных исходов за год		Количество летальных исходов при токсическом действии метилового спирта	Летальность за год (%)	Количество летальных исходов при токсическом действии этиленгликоля	Летальность за год (%)
		Т51	Т52				
2007	44	14	1	-	-	-	-
2008	74	38	-	2	2,7%	-	-
2009	79	48	1	2	2,53%	-	-
2010	43	28	1	3	6,98%	1	2,33%
2011	61	21	9	5	8,20%	2	3,48%
2012	78	23	-	1	1,28%	-	-
2013	74	32	2	1	1,35%	1	1,35%
2014	46	20	1	4	8,7%	1	2,17%
2015	51	19	1	3	5,88%	-	-
2016	46	21	-	6	13,04%	-	-
Всего	596	264	16	27	ср 4,53%*	5	ср 0,84%

и в нозологических формах отравлений метиловым спиртом и этиленгликолем за 2007-2016 гг. представлены в таблице 7.

Анализ летальности за 2007-2016 гг. по округу в группах Т51 и Т52 показывает преобладание летальных исходов в группе Т51 – 264 случая (44,3% от всей летальности за 10 лет) и 16 случаев (2,7%) в группе Т52. Таким образом, в двух группах Т51-Т52 летальность составила 280 случаев – 47,0% (при общероссийских показателях в двух группах Т51-Т52 от 46,1% до 59,1%). Число летальных исходов при отравлении метанолом за анализируемый период составило 27 случаев – 4,5% (при среднем общероссийском показателе 17,7%), этиленгликолем – 5 случаев, что составляет 0,8% от всей летальности за 10 лет по округу.

Дифференциальной диагностикой острых отравлений метиловым спиртом, этиленгликолем по отношению к другим спиртам может являться: длительно сохраняющийся метаболический ацидоз (несмотря на введение более 1000 мл 4% гидрокарбоната натрия), гипокалиемия, гипомagnesия (возникающая на фоне длительного потребления алкоголя), гипернатриемия, обнаружение кристаллов оксалатов в моче, изменение осмотического интервала и анионной разницы. Повышенный уровень гликолевой кислоты может ошибочно показать увеличенный уровень молочной кислоты [12].

Степень релевантности терапии (значимости в момент времени, адекватности, соответствия, применимости) при токсическом действии метилового спирта и этиленгликоля зависит от длительности нахождения пациента без оказания медицинской помощи (времени прошедшего с момента поступления), дозы поступившего токсиканта, глубины нарушений функциональных систем, толерантности к алкоголю и соматических последствий, возникших на фоне пагубного его потребления.

Оказание помощи данной категории пострадавших, как правило, начинается с этапа скорой медицинской помощи, которая выполняется как в экстренной, так и в неотложной форме (с учетом тяжести состояния) в соответствии с Порядками: приказ Минздрава РФ от 15.11.2012 N925н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями» (основные положения документа применительно к данным нозологическим группам отравлений: диагностика, лечение острого химического отравления спиртами, консультативная помощь медицинским специалистам); приказ Минздрава РФ от 20.06.2013 N388н «Об утверждении порядка оказания скорой, в том числе скорой специализированной медицинской помощи» (основные положения: скорая медицинская помощь оказывается на основе стандартов

медицинской помощи, клинических рекомендаций и предполагает на данном этапе установление ведущего синдрома и предварительного диагноза заболевания (состояния) с учетом подробного сбора анамнеза заболевания, с уточнением особенностей алкогольного анамнеза; осуществление мероприятий, способствующих стабилизации или улучшению клинического состояния пациента с оценкой периода отравления специалистом, оказывающим помощь) и Федеральными клиническими рекомендациями (основные положения: проведение диагностических и лечебных мероприятий в соответствии со степенью тяжести отравления) [1,2], стандартами – приказ Минздрава РФ от 24 декабря 2012 г. N 1392н (проведение осмотра, лабораторных и инструментальных методов исследования, лечения и контроль изменения состояния на фоне проводимой терапии).

Как указывают литературные источники [3], получение наиболее качественного результата оказания помощи пациентам токсикологического профиля, как правило, достигается в специализированных отделениях, имеющих лицензию по данному виду медицинской помощи [13]. Так, в Московском центре отравлений НИИ им. Н.В.Склифосовского летальность при отравлении этанолом составляет 1%, в неспециализированных отделениях около 3% [1]. Поэтому при оказании помощи пациентам токсикологического профиля, поступившим в неспециализированные отделения, неотложная и экстренная медицинская помощь должна оказываться строго с соблюдением подпункта 3.18.6. Критерии качества специализи-

рованной медицинской помощи взрослым и детям при токсическом действии алкоголя (приказ Минздрава РФ от 10 мая 2017 г. N 203н), который включает консультацию врача-токсиколога.

Выводы.

1. Проведенный анализ 130 случаев заболеваемости при токсическом действии метилового спирта и этиленгликоля показывает, что причинами развития недостаточности функциональных систем (наблюдаются при токсическом действии метанола и этиленгликоля, начиная со средней степени тяжести) являются: нарушение процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях, кислотно-щелочного равновесия, изменения соотношения НАД/НАДН и ингибирование глюконеогенеза, что приводит к развитию полиорганной недостаточности.

2. Количество случаев токсического действия метилового спирта и этиленгликоля за десятилетний период не превышало 4,0 на 100 тыс. населения.

3. В группах Т51-Т52 число летальных исходов за 10 лет составило 280 случаев – 47,0% от общей летальности. Из них токсическое действие метанола составило 27 случаев – 4,5%, этиленгликоля – 5 случаев – 0,8%.

4. Ведущими условиями выживаемости пострадавших являлись: сочетанный прием токсикантов с этиловым спиртом, непродолжительный период без оказания медицинской помощи.

5. Выполнение необходимых медицинских услуг при отравлении должно проводиться с учетом регламентированных критериев качества оказания медицинской помощи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сабаяев А.В., Ливанов А.С., Бонитенко Е.Ю. Токсическое действие алкоголя: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–50 с.
2. Сивораक्षा Г.В., Бонитенко Е.Ю., Ливанов А.С. Токсическое действие метанола и гликолей: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–38 с.
3. Остапенко Ю.Н., Ковалев А.В., Гасимова З.М., Заиковский В.В. Токсикологическая помощь населению Российской Федерации: состояние и проблемы; Токсикологический вестник; 2014; 3: 2-8.

4. Сенцов В.Г., Ентус В.А., Реутов А.А.; Эпидемиология острых отравлений в Уральском федеральном округе (2010-2014 годы); Актуальные вопросы судебной медицины и проблемы токсикологии. Материалы межрегиональной научно-практической конференции. Екатеринбург; 2015; 70-79.
5. Яцинюк Б.Б., Сенцов В.Г., Волкова Н.А., Новокщенко И.Е., Бебякина Е.Е., Гавриков П.П. и др. Эпидемиология острой химической травмы на территории Ханты-Мансийского автономного округа-Югры в 2011-2015 гг. Монография. Ханты-Мансийск: ООО «Печатный мир»; 2017.

6. Яцинюк Б.Б. Эпидемиология острых отравлений в Ханты-Мансийском автономном округе – Югра; Токсикологический вестник; 2013; 5: 6-12.
7. Литвинова О.С., Калиновская М.В. Токсикологический мониторинг причин острых отравлений химической этиологии в Российской Федерации; Токсикологический вестник; 2017; 1: 5-9.
8. Лужников Е.А., ред. Национальное руководство. Медицинская токсикология. М.: Медицина, 2014.
9. Приказ Минздрава РФ от 8.01.2002 г. № 9 «О мерах по совершенствованию организации токсикологической помощи

населению Российской Федерации».
10. Международная классификация болезней. Изд-во «Книга по Требованию». 2012.
11. Бонитенко Е.Ю. ред. Клиника, диагностика, лечение, судебно-медицинская экспертиза отравлений алкоголем и его суррогатами: Пособие для врачей. СПб.: Медкнига «ЭЛБИ-СПб», 2013.
12. Хоффман Р., Нельсон Л., Хауланд М.-Э., Льюин Н., Фломбаум Н., Голдфранк Л. Экстренная медицинская помощь при отравлениях – М.: Практика, 2010.
13. Федеральный закон от 21.11.2011 N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

REFERENCES:

1. Sabaev A.V., Livanov A.S., Bonitenko E.Y. Alcohol toxic effect: Federal clinical guidelines. Clinical toxicologist association. Moscow.; 2013 – page 50 (in Russian).
2. Sivoraksha G.V. Bonitenko E.U. Livanov A.S. Toxic effect of methanol and glycol alcohol: Federal clinical guidelines. Clinical toxicologist association. Moscow.; 2013 – page 38 (in Russian).
3. Ostapenko Y.N., Kovalev A.V., Gasimova Z.M., Zaikovskiy V.V. Toxicological aid to population of the Russian Federation: status and problems; Toxicological review; 2014; 3: 2-8 (in Russian).
4. Sentsov V.G., Entus V.A., Reutov A.A.

Epidemiology of acute poisoning in the Ural federal district. The current issues of forensic medicine. The information of interregional Scientific and Practical Conference. Yekaterinburg; 2015; 70-79 (in Russian).
5. Yatsinyuk B.B., Sentsov V.G., Volkova N.A., Novokshchenova I.E., Bebyakina E.E., Gavrikov P.P., et al. Epidemiology of acute chemical injury in territory of Khanty-Mansiysk autonomous okrug-ugra in 2011-2015 years. Khanty-Mansiysk. 2018 (in Russian).
6. Yatsinuk B.B. Epidemiology of acute poisonings in the Khanty-Mansiisk Autonomous Area-Yurga; Toxicological

review; 2013; 5: 6-12 (in Russian).
7. Litvinova O.S., Kalinovskaya M.V. «Toxicological Monitoring of acute poisonings of chemical etiology in the Russian federation». Toxicological review. 2017; 1: 5-9 (in Russian).
8. E.A. Lugnikov, as revised in Medical toxicology: National governance. Moscow. GEOTAR-Media; 2014 – page 928 (in Russian).
9. The order of the Ministry of Health Russian Federation from 8.01.2002 г. № 9 «About measures to improve the organization of toxicological aid in the Russian Federation»

10. International classification of diseases. 2012 (in Russian).
11. Bonitenko E.Y. ed. Clinic, diagnostics, treatment, forensic examination of alcohol poisoning and it's surrogates. A handbook for physicians. St. Petersburg. Medkniiga "ELBI-SPB". 2013 (in Russian).
12. Hoffman R., Nelson L., Hauland M.-E. et al. Emergency medical treatment for poisoning. Moscow. Praktika. 2010 (in Russian)
13. Federal act from 21.11.2011 № 323 "About bases of citizens' healthprotection in Russian Federation" (as revised in 07.03.2018) (in Russian).

B.B. Yatsinyuk¹, Yu.N. Ostapenco², S.A. Vasil'ev³, E.E. Bebyakina⁴, P.P. Gavrikov¹, A.M. Laptev¹

MORBIDITY ASSOCIATED WITH THE TOXIC EFFECT OF METHYL ALCOHOL AND ETHYLENE GLYCOL IN THE STRUCTURE OF CHEMICAL TRAUMA IN THE TERRITORY OF KHMAO-YUGRA AND THE DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL INSUFFICIENCY SYNDROMES IN THESE NOSOLOGICAL FORMS OF THE DISEASE

¹Khanty-Mansiysk State Medical Academy, 628011, Khanty-Mansiysk, Russian Federation

²Scientific and Practical Toxicological Center of the Federal Medical-Biological Agency, 129090, Moscow, Russian Federation

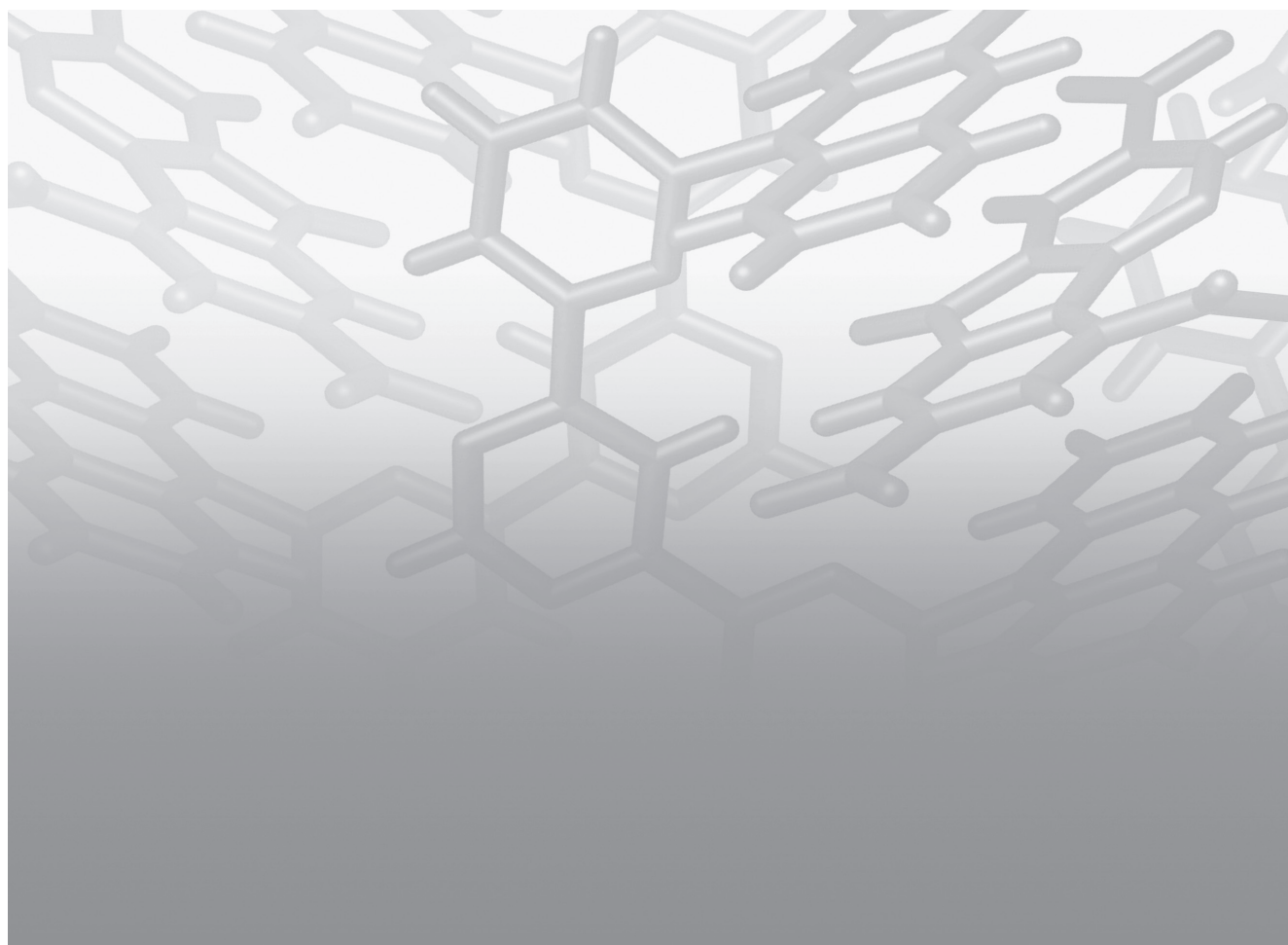
³I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, RF Ministry of Health, 191015 Saint Petersburg, Russian Federation

⁴District Clinical Hospital, 628011, Khanty-Mansiysk, Russian Federation

Analysis of the dynamics of morbidity associated with the toxic effect (poisoning) of substances in the T51-T52 groups in the Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug – Ugra, as well as in other regions of the Russian Federation, is of great social importance because of the high mortality in these groups in the Russian Federation. The study of epidemiological data on the basis of the reporting form № 64 showed that the incidence of acute poisoning with methyl alcohol and ethylene glycol does not exceed 4,0 per 100 thousand population. The number of deaths in the T51-T52 groups for 10 years was the highest number (47,0%) of undesirable outcomes, while the toxic effect of methanol and ethylene glycol in the T51-T52 groups was noted in 5,3% of cases. The assessment of functional insufficiency of systems in the toxicogenic period at receipt of methyl alcohol and ethylene glycol into the body of victims allows to define severity of the conditions in order to choose the tactics for conducting intensive care measures for victims. The leading conditions of survival of the victims were combination of toxicants with ethyl alcohol, a short period without medical care. Performance of necessary acute poisoning medical services should be carried out taking into account the regulated criteria of quality in medical care.

Keywords: *toxic effect, poisoning, methyl alcohol, ethylene glycol, ethyl alcohol.*

Материал поступил в редакцию 16.05.2019 г.



УДК 546.282:546.824:546.723-31:615.916

МНОГОКАМЕРНАЯ МОДЕЛЬ КАК ИНСТРУМЕНТ АНАЛИЗА ТОКСИКОКИНЕТИЧЕСКОЙ РОЛИ РАСТВОРЕНИЯ ЭЛЕМЕНТО- ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ И ФАГОЦИТАРНОЙ РЕАКЦИИ НА ИХ ОТЛОЖЕНИЕ В ЛЁГКИХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ

Б.А. Кацнельсон¹,
М.П. Сутункова¹,
Л.К. Коньшева²,
С.Н. Соловьева¹,
И.А. Минигалиева¹,
В.Б. Гурвич¹,
Л.И. Привалова¹

¹ФБУН Екатеринбургский
медицинский научный
центр профилактики и
охраны здоровья рабочих
промпредприятий
Роспотребнадзора, 620014,
г. Екатеринбург, Российская
Федерация
²Екатеринбургская духовная
семинария

В статье прослежены этапы развития системной многокамерной модели, описывающей механизмы лёгочной задержки частиц при хронических ингаляционных экспозициях. Эта модель была впервые разработана и экспериментально испытана для разных условий экспозиции к полидисперсной пыли SiO₂ или TiO₂, а в дальнейшем успешно использована как базовая для анализа паттернов задержки наночастиц (НЧ) разного химического состава (Fe₂O₃, SiO₂, NiO). Наиболее существенная адаптация её к условиям воздействия элементно-оксидных НЧ потребовалась ввиду необходимости учесть роль не только физиологических механизмов их элиминации, но также их растворимости «*in vivo*». Было найдено, что относительный вклад последней может быть разным для НЧ разной природы, причём в некоторых случаях доминирующим. Моделирование задержки NiO-НЧ свидетельствует также о том, что повреждение физиологических механизмов лёгочного клиренса особо токсичными наночастицами может сделать их лёгочную токсикокинетику нелинейной.

Ключевые слова: наночастицы, лёгочная задержка, многокамерные модели.

Введение. Долговременная задержка (накопление) частиц в организме при хронической ингаляционной экспозиции к ним может быть измерена только в экспериментах на животных, так что её предсказание с помощью той или иной математической модели едва ли имеет непосредственное практическое значение для прогнозирования токсикологических рисков, связанных с реальными экспозициями человека. Однако заключения, основанные на системном анализе механизмов, контролирующей такую задержку, включающем их математическое моделирование, вполне могут

быть экстраполированы на человека (с неизбежными оговорками о вероятных межвидовых различиях, общими для всей научной токсикологии). С этой точки зрения, экспериментальное подтверждение модельных прогнозов на крысах или других лабораторных животных может рассматриваться как существенный аргумент в пользу принципиальной верности тех концептуальных предпосылок, на которых соответствующая модель была основана, тем самым укрепляя теоретическую базу методологии оценки указанных рисков.

Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, bkaznelson@etel.ru

Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией токсикологии среды обитания ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, sutunkova@yngc.ru

Коньшева Людмила Константиновна (Konysheva Ludmila Konstantinovna), кандидат медицинских наук, доцент кафедры церковно-исторических и гуманитарных дисциплин, konkl@yandex.ru

Соловьева Светлана Николаевна (Solovyeva Svetlana Nikolaevna), научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, solovyevasn@yngc.ru

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), заведующий лабораторией промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, ilzira@yngc.ru

Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich), доктор медицинских наук, директор ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, gurvich@yngc.ru

Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larissa Ivanovna), доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией научных основ биологической профилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, privalova@yngc.ru

В рамках той проблемы, которой посвящена данная статья, отправной точкой послужила математическая модель задержки полидисперсных минеральных частиц в лёгких и в лёгочно-ассоциированных лимфоузлах, которая была впервые предложена свыше четверти века тому назад и успешно тестировалась по данным экспериментов с кварцитной пылью в разных условиях, со стандартным кварцем DQ_{12} и с диоксидом титана [1,2,3].

Как показано блок-схемой на рисунке 1, речь идёт о так называемой многокамерной (multicompartmental) модели. Такая модель принимает, что общее содержание вещества в организме или в отдельном органе (в данном случае – содержание твёрдых частиц в легких) распределено между несколькими виртуальными отсеками (которые не обязательно соответствуют определённым морфологическим структурам). В пределах такого отсека (камеры) любая частица имеет одну и ту же вероятность выйти из него в том или ином направлении, причём эти потоки (гипотетические либо ранее установленные) описываются системой линейных дифференциальных уравнений. Основные постулаты, отражаемые этой моделью (и, в свою очередь, принятые на основании анализа и обобщения собственных и литературных данных) состояли в следующем:

1. Фагоцитоз частиц, отложившихся при дыхании на свободной поверхности альвеолярной области лёгких, препятствует пенетрации частиц через альвеолярную мембрану в интерстициальную ткань и, вероятно, облегчает их перемещение в зону мукоцилиарной активности.

2. Наряду с поглощением частиц альвеолярными макрофагами (АМ), роль вспомогательного эффектора фагоцитоз-обусловленного лёгочного клиренса частиц играет их поглощение нейтрофильными лейкоцитами (НЛ), вклад которых тем значительнее, чем выше цитотоксичность частиц для АМ¹.

3. Только те частицы, которые не успели быть фагоцитированными или вторично освободились после разрушения повреждённого ими макрофага, способны к пенетрации через альвеолярную мембрану и последующему перемещению с лимфой (по коротким путям лёгочного лимфотока в мукоцилиарную зону или по длинным в сторону лёгочно-ассоциированных лимфоузлов).

4. Поскольку нагрузка микрометровых минеральных частиц на единичный НЛ, судя по данным микроскопии, была в проведенных экспериментах относительно невелика, разрушение этих

клеток структурой модели не учитывалось как предположительно несущественное.

5. Пул интерстициальных лёгочных макрофагов является одним из признанных резервов мобилизации альвеолярных, что служит предпосылкой к возвращению в альвеолы некоторой доли тех частиц, которые ранее пенетрировали в интерстициум и были в нём фагоцитированы.

Легко заметить, что основанная на этих представлениях модель не учитывала возможность самоочищения лёгочной ткани от частиц в результате их постепенного растворения, которое не отрицалось, но было принято несущественным. Подобной же позиции придерживались авторы другой системной модели задержки пыли в лёгких, опубликованной несколько позднее [4, 5]. С другой стороны, они не только не учитывали токсикокинетических эффектов разрушения АМ поглощаемыми частицами и реакции на это разрушение, но и прямо указывали, что предлагают модель задержки «не цитотоксичных» частиц, хотя начали с рассмотрения кварцевых, известных своей цитотоксичностью. Напротив, мы приняли, что большая или меньшая способность к цитотоксичному повреждению АМ является облигатной характеристикой частиц любой минеральной пыли. В зависимости от уровня этого эффекта менялись те коэффициенты модели, которые относятся к обратному переходу частицы из фагоцитированного в свободное состояние и к НЛ-зависимому фагоцитозу.

Идентификация модели (то есть подбор тех значений её параметров, при которых она удовлетворительно описывает фактическую кривую накопления частиц в лёгких) была первоначально проведена на основании данных хронического ингаляционного эксперимента² с кварцитной пылью. Затем она была подтверждена данными двух других экспериментов с той же самой пылью (в одном из которых успешно моделировался благоприятный эффект повышения устойчивости организма к цитотоксическому действию частиц при назначении глутамата) или со значительно менее цитотоксичной пылью диоксида титана. Позднее та же самая модель и тот же алгоритм её адаптации были успешно апробированы [3] при прогнозировании измеренной другими исследователями [14] задержки частиц стандартного кварца DQ_{12} , которые наоборот значительно более цитотоксичны, чем частицы кварцитной пыли, использованной в собственных экспериментах.

Как ясно из вышеизложенного, представленная на рисунке 1 структура модели игнорировала возможность растворения частиц, а также прямой пенетрации их в кровь и не позволяла оценить вклад этих нефизиологических механизмов

¹Отметим, что независимо от того, рассматривается ли мобилизация НЛ как признак воспаления, вызываемого действием таких частиц [6,7,8,9,10,11,12] или как специальный механизм клиренса, компенсирующий повреждение АМ (точка зрения, неоднократно обосновываемая нами начиная с [13]), или же, что наиболее вероятно, имеет место и то, и другое – в любом случае, вовлечённость рассматриваемой мобилизации в процесс клиренса сомнений не вызывает.

² Здесь и во всех далее рассматриваемых случаях – на аутбредных крысах.

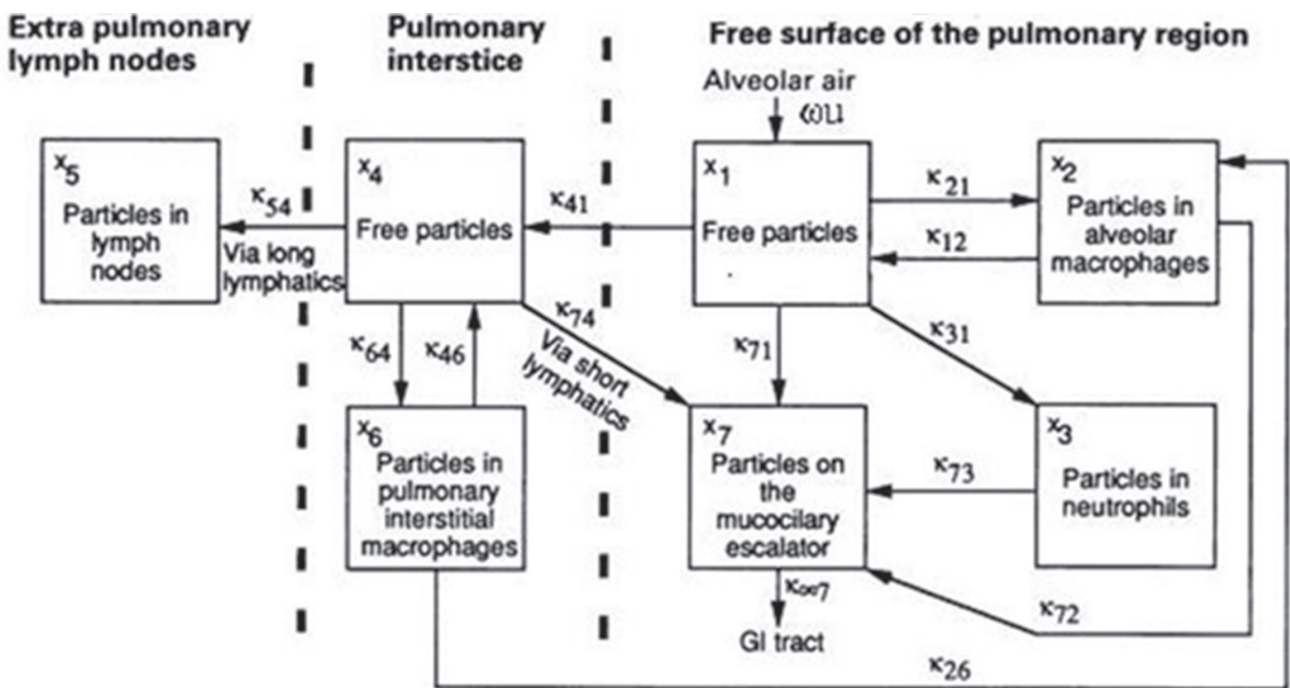


Рис. 1. Структура многокамерной модели задержки, перераспределения и элиминации практически нерастворимых пылевых частиц, отлагающихся в альвеолярной области [1]. Нотификация констант объяснена в тексте.

в лёгочный клиренс, априори принимая его несущественность. Между тем, имелись также априорные основания предположить, что этот вклад может оказаться существенным, когда речь идёт о частицах не микрометрового, как во всех вышеупомянутых исследованиях, а нанометрового диапазона, что и было декларировано в первой же нашей публикации по нано-токсикологической проблематике [15]. Спустя несколько лет мы смогли проверить эту гипотезу, когда получили техническую возможность осуществления реальных ингаляционных экспериментов с наночастицами (НЧ) на автоматически регулируемой установке типа «только нос». Уже первый такой хронический эксперимент [16], проведенный с аэрозолем Fe_2O_3 -НЧ, генерируемым непосредственно во время экспозиции животных, показал, что его задержка в лёгких и в лёгочно-ассоциированных лимфоузлах парадоксально низка, причём имитировать эту низкую задержку наша модель позволила только в том случае, если она была дополнена элиминационными потоками, описываемыми указанными нефизиологические механизмы элиминации НЧ из лёгких (рис. 2).

Если при гипотетической коррекции модели [15] мы исходили из того, что НЧ растворяются в любой её камере, то при осуществлении конкретного моделирования оказалось допустимым упрощение, сводящее это кинетически значимое растворение и/или пенетрацию в кровь к трём

потокам (рис. 2). Подбор соответствующих констант скорости этих потоков опирался на исследование кинетики растворения конкретных НЧ в биологических средах «*in vitro*». Наряду с этим, как и в предыдущих исследованиях, была осуществлена и некоторая подгонка тех констант модели, которые зависят от фагоцитарного механизма клиренса. Знак и допустимые пределы изменения этих констант были установлены исходя из данных сравнительной оценки сдвигов цитологических характеристик жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ) при однократной интратрахеальной инстилляцией Fe_2O_3 -НЧ или кварца DQ_{12} . Кроме того, учитывая ранее показанную значительную НЧ-нагрузку единичного НЛ [15], мы предположили, что цитотоксическое разрушение и этих клеток может играть заметную токсикокинетическую роль, и ввели в структуру модели соответствующий поток (обозначенный как k_{13} в блок-схеме на рис. 2).

Та же модель и те же подходы к её адаптации были затем использованы при анализе результатов второго хронического ингаляционного эксперимента, проведенного с промышленным аэрозолем, в составе которого преобладали НЧ аморфного диоксида кремния [17]. В обоих экспериментах такая адаптация позволила вполне удовлетворительно предсказать кинетику накопления НЧ в лёгких, что мы иллюстрируем на примере SiO_2 -НЧ (рис. 3).

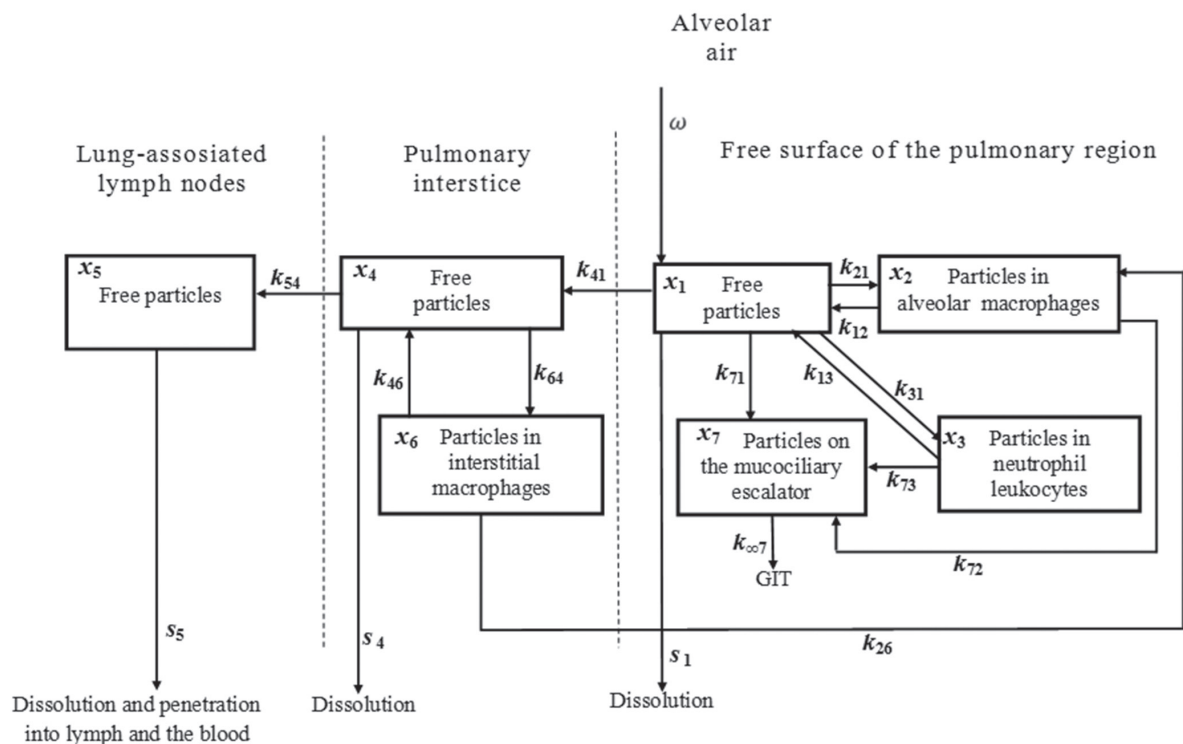


Рис. 2. Та же структура модели, что на Рис. 1, но дополненная тремя элиминационными потоками, связанными с растворением частиц – вариант моделирования, найденный адекватным для аппроксимации задержки Fe_2O_3 -НЧ [16] и SiO_2 -НЧ [17]. Нотификация констант объяснена в тексте.

Однако мы считали необходимым проверить ещё раз то казавшееся обоснованным заключение, что при не произвольной, а обоснованной количественной подгонке параметров той же самой базовой модели, но обязательно с поправкой на важную роль нефизиологического клиренса (в первую очередь, растворения) она окажется необходимой и достаточной для имитации кинетики лёгочной задержки НЧ-аэрозолей. Для этого этапа моделирования (на сегодня последнего) были использованы данные хронической ингаляционного эксперимента, в котором на крыс воздействовал аэрозоль наночастиц оксида никеля³.

Материалы и методы исследования. Аэрозоль NiO-НЧ получали непосредственно в ходе экспозиции крыс с помощью Palas DNP-3000 генератора путём электро-искровой абляции никелевых стержней 99.99% чистоты и подавали в компьютеризованную ингаляционную установку типа только нос (CN Technologies, США) на 60 крыс, помещаемых в «рестрейнеры» - пеналы, ограничивающие их подвижность (рис. 4а и 4б). Частицы, отобранные из зоны дыхания, имели сферическую форму при

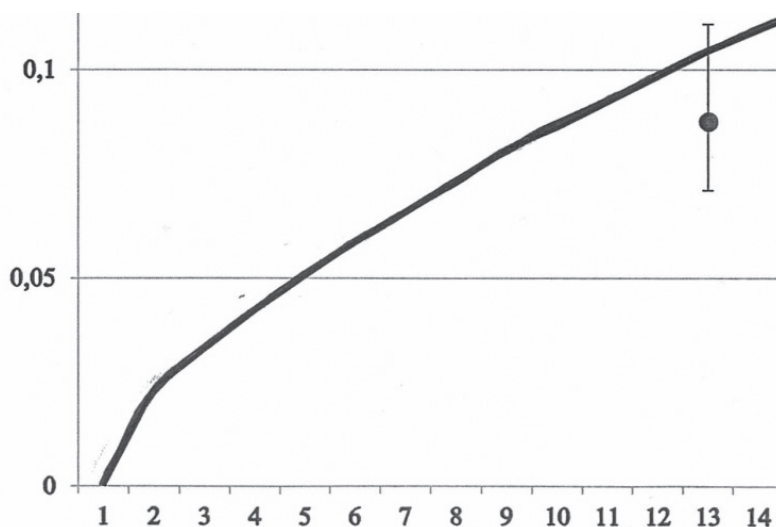
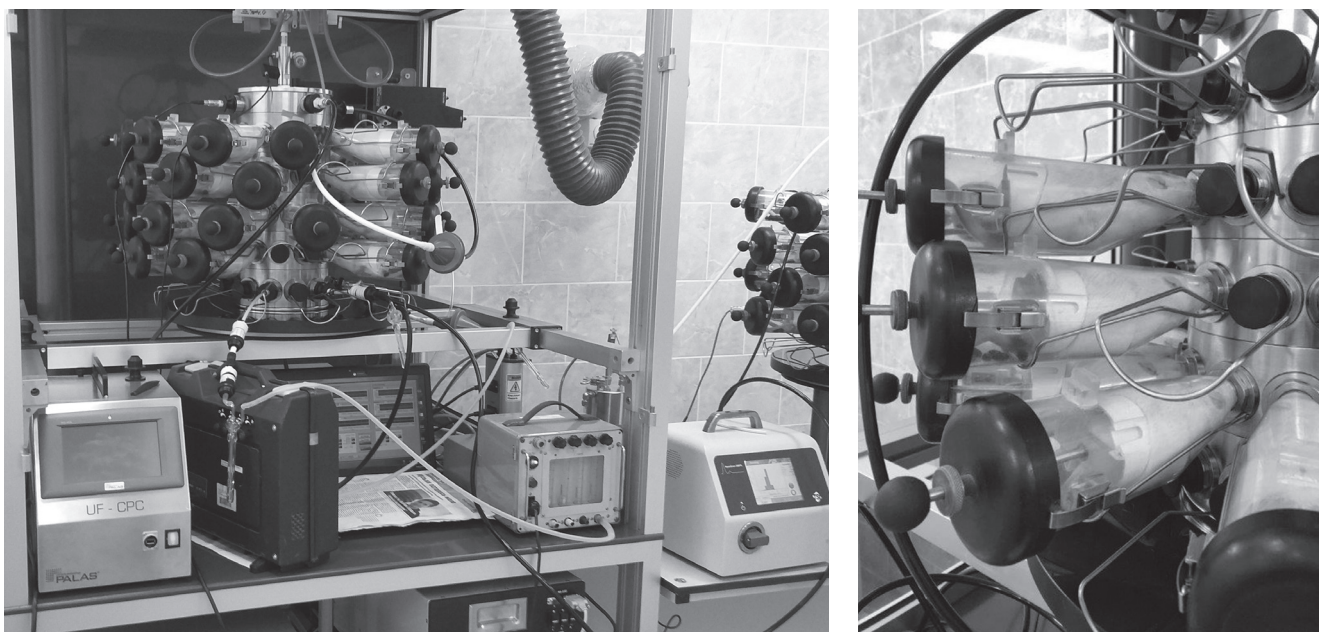


Рис. 3. Задержка SiO_2 в лёгких при хронической ингаляции SiO_2 -НЧ модельный прогноз (кривая) и средние экспериментальные данные (точки) с 95%ным ДИ [17].

диаметрах в границах нанометрового диапазона (рис. 4в) и химический состав, охарактеризованный с помощью Рамановской спектроскопии как соответствующий NiO.

Эксперимент проведен на аутбредных крысах-самках собственного выращивания при исходном возрасте около 4 мес. по не менее 12 особей на каждую продолжительность воздействия, которое осуществлялось в течение 3, 6 или 10 ме-

³Функциональные и морфологические эффекты этого воздействия рассмотрены отдельно [18]



(а)

(б)

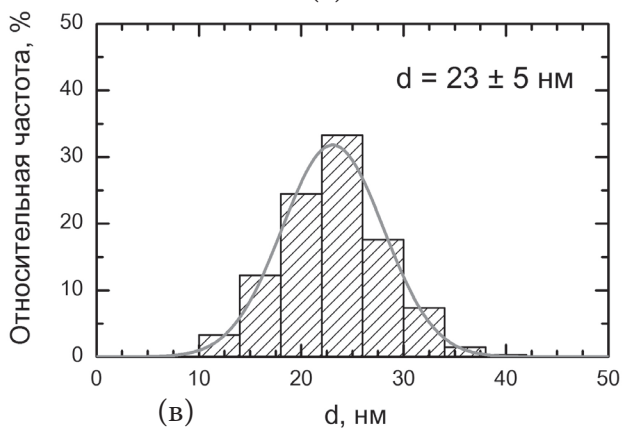


Рис. 4. (а) Ингаляционная установка типа «только нос», сфотографированная при снятых дверцах вытяжного шкафа (на заднем фоне – аналогичная установка без подачи аэрозоля для псевдо-экспозиции контрольной группы крыс). (б) Крысы в пеналах – «рестрайнерах». (в) Распределение наночастиц и их компактных агрегатов по диаметрам.

сяцев по 5 раз в неделю при 4-часовой разовой экспозиции. Содержание NiO в ткани лёгких и лимфоузлов измеряли по спектру электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), используя Bruker EMXplus EPR Spectrometer (США). Тем же методом повторно определялось содержание NiO в кусочках выходного фильтра после инкубации в деионизированной воде, в надсадочной фракции БАЛЖ или в эмбриональной бычьей сыворотке крови при 37° С на протяжении 4 дней.

Идентификация модели

Коэффициенты дифференциальных уравнений, описывающих перемещение частиц между камерами или наружу вне модели, как обычно, подбирались с помощью итеративной процедуры, подробно описанной ранее [1]. В нашей модели они интерпретируются как константы скорости переноса частиц из камеры X_i в камеру X_j и обозначаются как k_{ji} . В дальнейшем мы ввели дополнительную нотацию s_i для обозначения элиминационных потоков, обусловленных растворением (solubilization).

Для адаптации модели мы взяли в качестве исходного тот её вариант, который ранее [16] был идентифицирован для описания задержки Fe_2O_3 -НЧ, причём изменение некоторых констант опиралось на сравнительные цитологические характеристики БАЛЖ при действии этих и никель-оксидных частиц, и на оценку их растворимости в модельных средах. При этом, как всегда, мы не допускали искусственную подгонку модели под экспериментальные данные путём произвольного изменения тех её констант, которые вероятнее всего не зависят ни от фагоцитарного механизма клиренса, ни от растворимости наночастиц. Вместе с тем, мы считаем возможным изменять в каких-то пределах скорость первичного отложения частиц на свободной поверхности альвеолярной области лёгких, поскольку этот параметр (ω) не может быть непосредственно измерен, а всегда рассчитывается исходя из двух заведомо приближительных функциональных оценок:

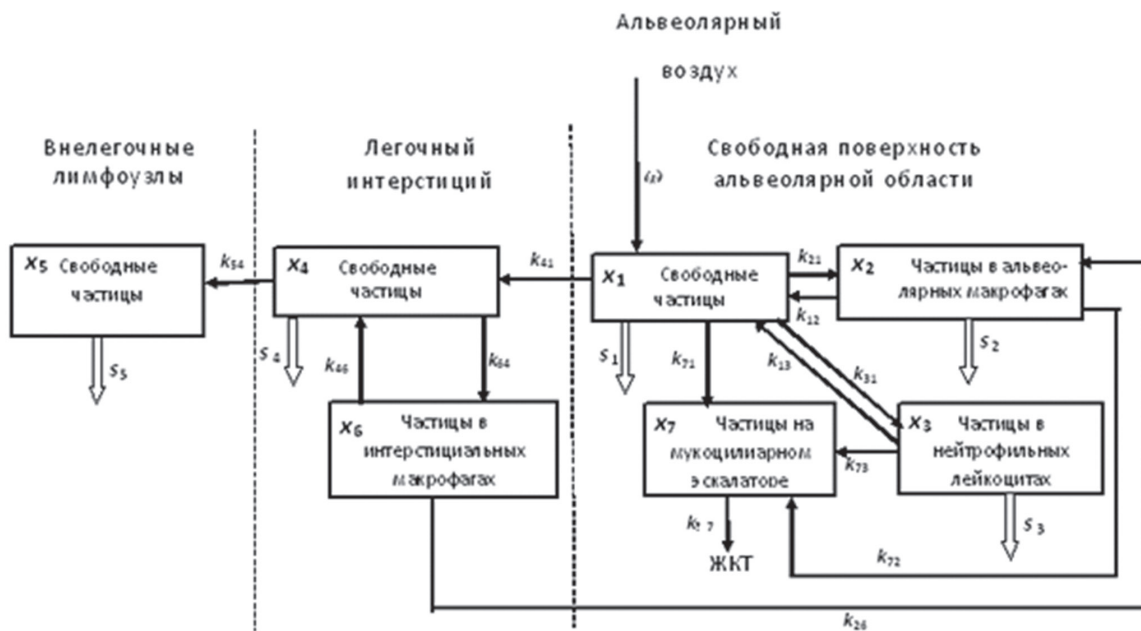


Рис. 5. Структура многокамерной модели кинетики легочной задержки, перераспределения и клиренса наночастиц NiO, отложившихся при дыхании в пульмонарной области легких, с учетом их растворимости. Нотификация констант объяснена в тексте.

(а) Минутный объём дыхания (МОД) крысы был измерен в ряде исследований, но результаты разных авторов варьировали в широких пределах от 78 мл [19] до 210 мл [20]. Дозиметрическая модель [21] приняла без опубликованного обоснования частоту дыхания равной 102 мин^{-1} , а дыхательный объём равным 2,1 мл, что даёт 214 мл как оценку МОД – явно экстремальную. При моделировании задержки Fe_2O_3 -НЧ и SiO_2 -НЧ [16,17] мы рассчитывали параметр ω исходя из величины МОД равной 100 мл, находящейся в пределах вышеприведенных экспериментальных данных, но выбранной достаточно произвольно.

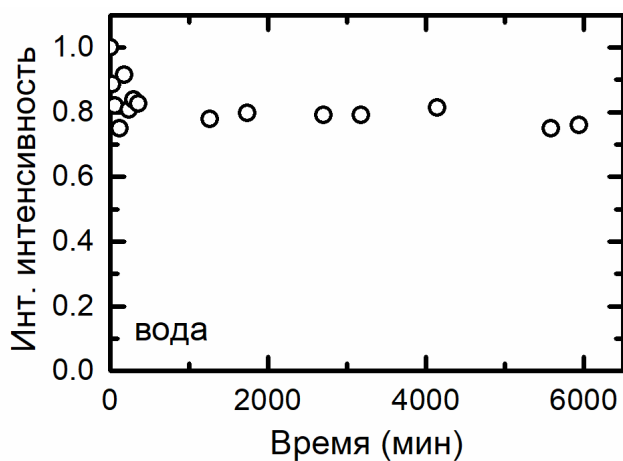
(б) В тех же предыдущих работах [16,17] мы приняли, что фракция ингалируемых наночастиц, первично отлагающаяся в альвеолярной области, равна 0,52. Эта величина близка к наименьшей из по-разному обоснованных оценок, которые приведены у [22], но намного выше той величины 0,124, которая опять-таки без видимого обоснования принята в модели [21] для альвеолярного отложения 20-нанометровых частиц. Учитывая, что, как было выявлено при сканирующей электронной микроскопии проб, отобранных на фильтры из зоны дыхания крысы, не только единичные NiO-НЧ, но даже их компактные агрегаты находятся в нижней половине нано-диапазона (рис. 4в), можно принять, что наша оценка не слишком велика. Однако и она заведомо не является точной величиной и вполне может быть несколько изменена в итеративной процедуре адаптации модели – особенно если учесть, что средние диаметры Fe_2O_3 -НЧ ($14 \pm 4 \text{ нм}$) и NiO-

НЧ ($23 \pm 5 \text{ нм}$), преимущественно определяющие фракционное отложение ингалируемых частиц, существенно не совпадают.

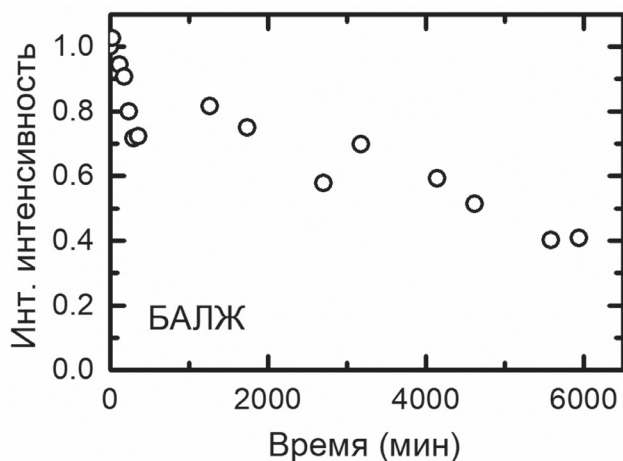
Следует отметить, что от величины ω зависит только достигаемый уровень накопления вещества в лёгких, но не форма кривой, описывающей это накопление во времени, воспроизвести которую наиболее важно.

Результаты и обсуждение.

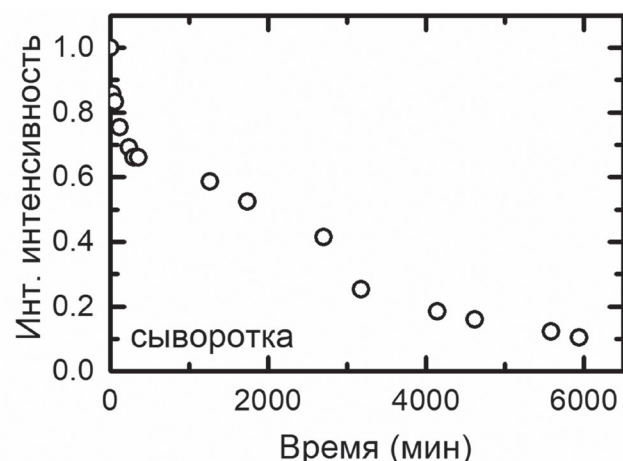
В данной статье мы рассматриваем эксперимент с хронической ингаляцией аэрозоля NiO-НЧ только как следующую стадию развития многокамерной модели механизмов отложения частиц в лёгких, в то время как особенности системных токсических эффектов этой ингаляции были описаны ранее [18]. В целом, были найдены свойственные всем ранее изучавшимся нами субхроническим и хроническим интоксикациям металло-оксидными наночастицами (MeO-НЧ) разнообразные неспецифичные проявления поражения печени и почек; торможение окислительно-восстановительного метаболизма при усилении процессов свободно-радикального окисления; повреждение некоторых участков головного мозга (отчасти связанное с носовым первичным отложением MeO-НЧ и их транслокацией в ольфакторную зону мозга). Наряду с этим, обнаружены цитологические признаки возможного развития аллергического синдрома и начальные пневмокониотические изменения, крайне слабо выраженные даже к концу 10-месячного экспозиционного периода, что хорошо коррелирует с низким уровнем накопления NiO-НЧ в лёгких.



а



б



в

Рис. 6. Снижение интенсивности ЭПР-сигнала (в производных единицах) от фильтра с задержанными на нём NiO-НЧ в результате их постепенного растворения (а) в воде или в физ. растворе; (б) в надосадочной фракции БАЛЖ; (в) в стерильной эмбриональной бычьей сыворотке крови.

Специфичной для токсичности никеля можно было считать найденную фазовую стимуляцию эритропоэза.

Что же касается кинетики лёгочного накопления этих наночастиц, то для её удовлетворительной имитации структуру нашей модели (рис. 5) и алгоритм управления последней пришлось дополнительно слегка модифицировать.

Во-первых, солюбилизация NiO-НЧ в организме, судя по результатам её оценки «*in vitro*», ещё более значительна – особенно в первую (быструю) фазу и особенно под влиянием сывороточных белков (рис. 6). Чтобы избежать необходимости придать нереалистично высокие значения соответствующим константам скорости элиминации никеля из лёгких, связанной с растворением частиц, пришлось отказаться от крайне упрощающего моделирования этой нефизиологической элиминации потоками только из двух лёгочных камер, описывающих пулы свободных частиц (рис. 2), и распределить её между четырьмя камерами (рис. 5) (не считая сохранённого потока из камеры, описывающей пул свободных частиц в лимфоузлах).

Во-вторых, существенное отличие экспериментально найденной кинетики накопления ингалируемых NiO-НЧ в лёгких от всего, что наблюдалось нами ранее в экспериментах с минеральными пылями или с другими MeO-НЧ, состоит в том, что в этом случае накопленная масса достигала равновесного уровня (т.е. плато) не плавно в течение довольно длительного срока, а необычно быстро, будучи практически установившейся уже к первому (3-месячному) сроку эксперимента (рис. 7). При постоянном уровне экспозиции такую «скачкообразную» кинетику задержки частиц удаётся имитировать моделью только в том случае, если допустить, что на ещё более ранних стадиях экспозиции их физиологическая элиминация происходила наиболее активно, а в дальнейшем постепенно снижалась (предположительно в результате повреждения её клеточных механизмов под действием этих особо токсичных частиц). Математически описать эти явления удалось, заменив ранее принятые постоянные значения коэффициентов k_{21} (0,5) и k_{31} (0,15) экспоненциальными функциями времени (соответственно, $0,5 + 0,5 * e^{-1 * t}$ и $0,15 + 1,35 * e^{-1 * t}$), которые обеспечивают быстрое снижение величины этих коэффициентов до некоторого квази-постоянного значения их самих. Отметим, что цитологическое изучение БАЛЖ после экспозиции различной продолжительности (данные которого мы не приводим ради сокращения объёма статьи) с самой идеей постепенного снижения активности фагоцитарного механизма самоочистения лёгких хорошо согласуются.

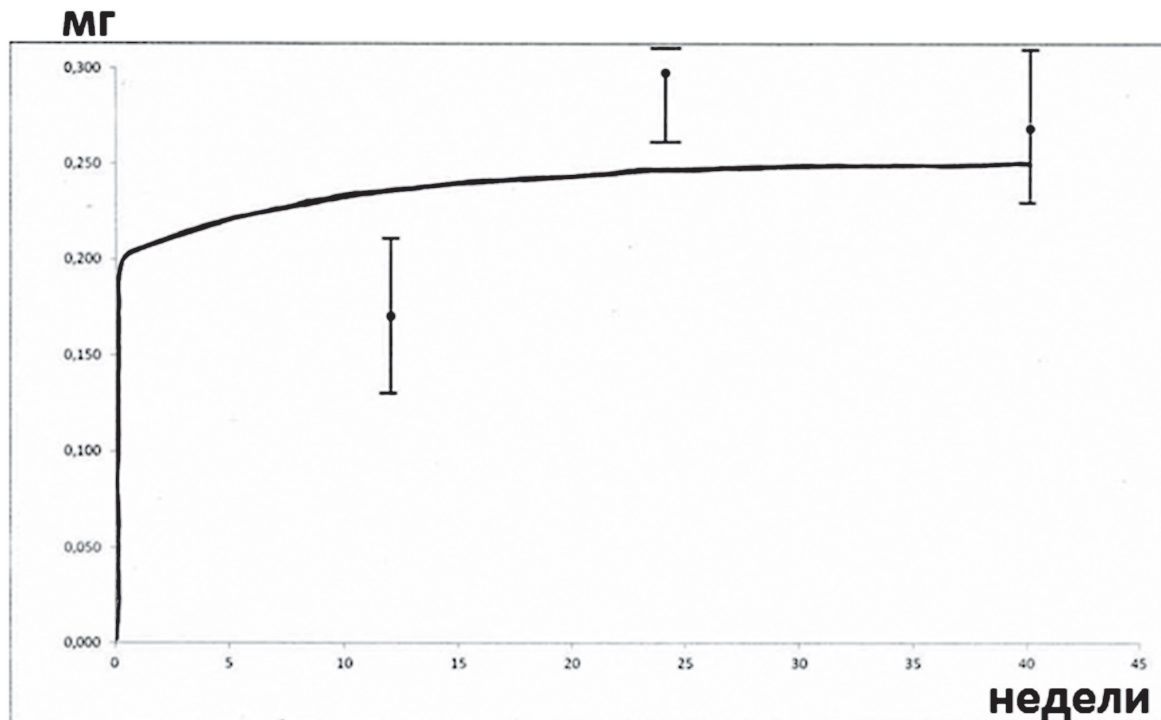


Рис. 7. Кинетика накопления NiO-НЧ в лёгких: линия – модельный прогноз в рамках 40-недельного периода, точки – фактические средние данные (в мг) с 95%-ным ДИ.

В результате этой модификации модель удовлетворительно аппроксимировала парадоксальную кинетику задержки NiO-НЧ в лёгких как в отношении её низкого равновесного уровня, так и в отношении быстроты его достижения (рис. 7), причём к концу 10-месячного периода модельный прогноз этой задержки находится в пределах 95%-ного доверительного интервала среднего экспериментального результата.

Выводы.

1. Многокамерная токсикокинетическая модель, в своё время развитая и экспериментально апробированная для анализа механизмов лёгочной задержки полидисперсных пылевых частиц микрометрового диапазона, успешно использо-

вана как базовая для такого же анализа в отношении наночастиц оксидов трёх химических элементов (железа, кремния и никеля).

2. Для этого потребовалось включить в структуру модели имитацию не только клеточно-опосредованных, но и нефизиологических механизмов лёгочного клиренса наночастиц, отложившихся при ингаляции (прежде всего, их растворения), вклад которых зависит от свойств конкретного нано-вещества, но вполне может доминировать.

3. Повреждение физиологических механизмов клиренса высокотоксичными наночастицами может привести к нелинейности кинетики их задержки в лёгких.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Konyshva L.K., Morosova K.I. Development of a multicompartamental model of the kinetics of quartz dust in the pulmonary region of the lung during chronic inhalation exposure of rats. *Brit. J. Industr. Medic.* 181-172 : (3)49 ;1992.
- Katsnelson B.A., Konyshva L.K., Sharapova N.Ye., Privalova L.I. Prediction of the comparative intensity of pneumoconiotic changes caused by chronic inhalation exposure to dusts of different cytotoxicity by means of a mathematical model. *Occupat. and Environ. Medic.* 180-173 : (3)5 ;1994.
- Katsnelson B.A., Konyshva L.K., Privalova L.I., Sharapova N.Ye. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartamental model: further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles. *Inhalation Toxicology.* 7156-703: (7)9 ;1997.
- Stöber W. POCK model simulations of pulmonary quartz dust retention data in extended inhalation exposures of rats. *Inhalation Toxicology.* : (4)11 ;1999 292-269.
- Lang T., Buchanan D., Miller B. G., Donaldson K. Mathematical modeling to predict the responses to poorly soluble particles in rat lungs. *Inhalation Toxicology.* 409-403 : (3)12 ;2000.
- Renwick L., Brown D., Clouter K., Donaldson K. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types. *Occup. Environ. Med.* :61 ;2004 447-442.
- Stoeger T., Reinhard C., Takenaka Sh., Schroepfel A., Karg E., Ritter B. Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice. *Environ. Health Perspect.* 333-328 : (3)114 ;2006.
- Sager T.M., Porter D.W., Robinson V.A., Lindsley W.G., Schwegler-Berry V.A., Castranova V. Improved method to disperse nanoparticles in vitro and in vivo investigation of toxicity. *Nanotoxicol.* 129-118 :1;2007.
- Grassian V.H., O'Shaughnessy P.T., Adamcakova-Dodd A., Pettibone J.M., Thorne P.S. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ. Health Perspect.* 402-397 :115 ;2007.
- Neuberger M. Umweltepidemiologie und Toxikologie von Nanopartikeln, in: Gazo A., Greßler S., Schiemer F. (Eds), *Nano-Chancen und Risiken aktueller Technologien.* Springer, Wien - New York. 197-181 ;2007.
- Warheit D.B., Reed K.L., Sayes C.M. A role for surface reactivity in TiO₂ and quartz-related nanoparticle pulmonary toxicity. *Nanotoxicol.* 187-181 :3 ;2009.
- Liu J., Feng X., Wei L., Chen L., Song B., Shao L. The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles. *Crit. Rev. Toxicol.* 384-348 : (4)46 ;2016.
- Privalova L.I., Katsnelson B.A., Osipenko A. B., Yushkov B.N., Babushkina L.G. Response of a phagocyte cell system to products of macrophage breakdown as a probable mechanism of alveolar phagocytosis adaptation to deposition of particles of different cytotoxicity. *Environ. Health Persp.* 218-205 :35 ;1980.
- Bellmann B., Muhle H., Creutzenberg

- O., Dasenbrock C., Klipper R., MacKenzie J. C., Morrow P., Mermelstein R. Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 313–300 :17 ;1991.
15. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S. Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite (Fe₃O₄) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? *Int. J. Occup. Environ. Health.* 52–508 :16 ;2010.
16. Sutunkova M.P., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Konyshcheva L.K., Shur V.Ya., Shishkina E.V., Minigalieva I.A., Solovyeva S.N., Grebenkina S.V., Zubarev I.V. On the contribution of the phagocytosis and the solubilization to the iron oxide nanoparticles retention in and elimination from lungs under long-term inhalation exposure. *Toxicology.* 28–19 :363;2016.
17. Solovyeva S.N., Sutunkova M.P., Katsnelson B.A., Gurvich V.B., Privalova L.I., Minigalieva I.A., Slyshkina T.V., Valamina I.E., Makeyev O.H., Shur V.Ya., Zubarev I.V., Kuznetsov D.K., Shishkina E.V. Interplay of the pulmonary phagocytosis response to, and the in vivo solubilization of amorphous silica nanoparticles deposited in lungs of rats under long-term inhalation exposures as determinants of their modest fibrogenicity and low systemic toxicity (experimental and mathematical modeling). In: *International Conference on Occupational Safety and Health, 4th edition, London, U.K., Journal of Nursing and Health Studies.* :3 ;2018 2825–2574.
18. Sutunkova M.P., Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Соловьёва С.Н., Гурвич В.Б., Бушуева Т.В., Сахаудинова Р.Р., Валамина И.Е., Макеев О.Г., Зубарев И.В., Минигалиева И.А., Клинова С.В., Шур В.Я., Грибова Ю.В., Царегородцева А.Е., Коротков А.В., Шуман Е.А., Шишкина Е.В. Оценка токсических эффектов наночастиц оксида никеля при ингаляционных воздействиях. *ЗНИСО.* 29–24 :(309)12 ;2018.
19. Ramahandran G. Assessing nanoparticle risk to human health. Elsevier, Amsterdam. 2016.
20. Maulderly J.L., McCunney R.G. Particle overload in the rat lung and lung cancer. Implications for human risk assessment. Taylor & Francis, Philadelphia, USA. 1997.
21. Anderson D.S., Patchin E.S., Silva R.M., Uyeminami D.L., Sharmah A., Guo T., Das G.K., Brown J.M., Shannahan J., Gordon T., Chen Lung Chi, Pinkerton K.E., Van Winkle L.S. Influence of particle size on persistence and clearance of aerosolized silver nanoparticles in the rat lung. *Toxicological sciences.* :(2)144 ;2015 381–366.
22. Kolanjiyil A.V. Deposited nanomaterial mass transfer from lung airways to systemic regions. A thesis for MSc degree. Raleigh, NC. 2013.

B.A. Katsnelson¹, M.P. Sutunkova¹, L.K. Konyshcheva², S.N. Solovyeva¹, I.A. Minigalieva¹, V.B. Gurvich¹, L.I. Privalova¹

MULTI-CHAMBER MODEL AS AN INSTRUMENT FOR ANALYSIS OF THE TOXICOKINETIC ROLE OF SOLUBILITY OF ELEMENT OXIDE NANOPARTICLES AND PHAGOCYTTIC REACTION TO THEIR DEPOSITION IN LUNGS IN CHRONIC INHALATION EXPOSURE

¹Ekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers of the Rospotrebnadzor, Ekaterinburg, Russia

²Ekaterinburg Theological Seminary

The paper retraces the development of a mechanistic multi-chamber model describing particle retention in lungs in chronic inhalation exposures. This model was first developed and experimentally tested for various conditions of exposure to polydisperse dusts of SiO₂ or TiO₂, and later successfully used as a basis for analyzing patterns in the retention of nanoparticles (NP) having different chemical compositions (Fe₂O₃, SiO₂, NiO). The most significant adaptation of this model for exposure to element oxide NPs was due to the need to take into account not only the physiological mechanisms of their elimination, but also their solubility «in vivo». It has been found that the relative contribution of the latter might be different for nanoparticles of different nature and predominant in some cases. The modeling of NiO-NPs retention also suggests that damage to the physiological pulmonary clearance mechanisms by particularly toxic nanoparticles might result in lung toxicokinetics becoming nonlinear.

Keywords: nanoparticles, lung retention, multi-chamber models.

Материал поступил в редакцию 29.03.2019 г.



УДК 615.9:661.74

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИЗОЛИРОВАННОГО МИОКАРДА КРЫСЫ ПОСЛЕ КУРСОВОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДИОКТИЛТЕРЕФТАЛАТА

Д.С. Лаптев,
С.Г. Петунов,
О.В. Нечайкина,
Д.В. Бобков

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

На модели изолированного сердца крысы изучено кардиотоксическое влияние длительной (в течение 60 дней) ингаляции диоктилтерeftалата в дозах 3,4, 18,6 и 96,8 мг/м³. Курсовое воздействие диоктилтерeftалатом не изменяет сократительную активность и адренореактивность сердца крыс. Диоктилтерeftалат в дозах 96,8 мг/м³ и 18,6 мг/м³ способствует развитию изменений электрической активности миокарда, приводя к увеличению амплитуды зубцов R и T, удлинению интервала QT и укорочению PR-интервала, что может вызывать нарушение сердечного ритма при ишемических состояниях. Адренореактивность изолированного сердца под влиянием диоктилтерeftалата не изменяется. Учитывая полученные данные безопасной для сердца можно считать концентрацию диоктилтерeftалата 3,4 мг/м³.

Ключевые слова: диоктилтерeftалат, изолированное сердце, кардиотоксичность.

Введение. Диоктилтерeftалат (ДОТФ) представляет собой сложный эфир 2-этилгексанола и терeftалевой кислоты. Является пластификатором нового поколения, находящим применение в качестве более экологичного и безопасного заменителя диоктилфталата (ДОФ) и других фталатов. Ближайшей перспективой является существенное увеличение производства ДОТФ с улучшенными техническими характеристиками с целью импортозамещения в российской нефтехимической отрасли, реализуемое АО «Сибур-Химпром» (г. Пермь). Несмотря на установленный низкий уровень токсического воздействия на организм человека, расширение промышленного производства ДОТФ требует углубленной оценки его безопасности, в частности, оценки его влияния на сердечно-сосудистую систему, доля которой в профпатологии является лидирующей.

Острое интратрахеальное введение ДОТФ (максимальная концентрация в пересчете составила 2500 мг/м³) не оказывает токсического влияния на организм животных [1], сведений же о хроническом действии ДОТФ в литературе не представлено.

Целью работы было изучение кардиотоксических эффектов ДОТФ при субхроническом (в течение 60 дней) ингаляционном действии.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на модели *ex vivo* -изолированном сердце самцов белых крыс, полученных из питомника ФГБУН ИБХ РАН «Пушино» (Москва). Использование изолированных органов позволяет проводить исследования в отсутствие системных факторов регуляции и дает возможность исследовать механизмы действия биологически активных веществ, в том числе ксенобиотиков, на параметры функциональной активности, определить структуры-мишени, установить степень нарушения функции и обратимость ее восстановления под влиянием токсикантов.

Были сформированы 4 экспериментальные группы животных по 6 особей в каждой: контроль, ДОТФ (max), ДОТФ (med), ДОТФ (min). Животные опытных групп подвергались ингаляционной заправке ДОТФ ежедневно в течение 60 дней по четыре часа в дозах: ДОТФ (max) – 96,8 мг/м³, ДОТФ (med) – 18,6 мг/м³, ДОТФ (min) – 3,4 мг/м³. По окончании курсового воздействия животные подвергались эвтаназии путем церви-

Лаптев Денис Сергеевич (Laptev Denis Sergeevich), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экстремальной физиологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, lapden@mail.ru

Петунов Сергей Гервасиевич (Petunov Sergey Gervasiyevich), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией экстремальной физиологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, sergey-petunov@mail.ru

Нечайкина Ольга Валерьевна (Nechaykina Olga Valeryevna), научный сотрудник лаборатории экстремальной физиологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, olga2278@mail.ru

Бобков Дмитрий Владимирович (Bobkov Dmitriy Vladimirovich), старший научный сотрудник лаборатории экстремальной физиологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, bdv21@yandex.ru

кальной дислокации, после чего проводили исследование сократительной и электрической активности изолированного сердца по Лангендорфу в соответствии с методикой, описанной ранее [2]. Параметры сократительной активности сердца регистрировали с помощью системы PowerLab Data acquisition system 8/30 (ADInstruments, USA) с последующей обработкой в программе «LabChartProUpgrade 7.0». Регистрируемые показатели: давление перфузии (ДП), пульсовое давление (ПД), частота сердечных сокращений (ЧСС), конечное диастолическое давление (КДД), ЭКГ. С помощью программного обеспечения дополнительно рассчитывались интегральный показатель минутной производительности левого желудочка сердца, соответствующий площади под кривой изменения давления в левом желудочке за одну минуту (Int_{мин}), максимальная скорость нарастания и снижения давления в левом желудочке (+dP/dt; -dP/dt). В каждом эксперименте проводили исследование адренореактивности миокарда, оценку устойчивости к ишемическому/реперфузионному воздействию.

Оценка адренореактивности проводилась путем добавления в перфузат адреналина до достижения концентрации 1×10^{-6} М. Экспозиция составляла 10 минут, что определялось скоростью формирования сосудистых реакций на действие вазоактивной субстанции [3]. По окончании воздействия проводили «отмывание» сердца физиологическим раствором Кребса-Хензелейта с целью определения обратимости наблюдаемых эффектов. Для оценки устойчивости изолированного миокарда к ишемии/реперфузии выполняли тотальную ишемию путем прекращения перфузии в течение 30 минут при 37°C с последующей реперфузией также в течение 30 минут.

При анализе результатов оценивали динамику параметров сократительной и электрической активности сердца по сравнению с фоновыми значениями. Статистическую обработку проводили в программе «GraphPad Prism 5.04». Для сравнения применяли Т-критерий Вилкоксона для связанных выборок, а для выявления межгрупповых различий применяли U-критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Курсовое 60-дневное ингаляционное применение ДОТФ в исследуемых дозах не оказывало существенного влияния на параметры сократительной активности изолированного миокарда, такие как ЧСС, пульсовое давление и др. (табл. 1). Вместе с тем были выявлены изменения электрической активности сердца.

Анализ ЭКГ изолированного сердца крыс, заправленных ДОТФ в течение 60 дней, показал, что применение ДОТФ в средней и большой дозе сопровождается увеличением амплитуды зубцов R и T (табл. 2). У части животных в группе ДОТФ тах выявлена тенденция к удлинению интервала QT и укорочению PR-интервала.

Изменения электрической активности сердца, выявленные в экспериментальных группах животных, указывают на ускорение проведения возбуждения по миокарду предсердий и желудочков, что косвенно характеризуется увеличением максимальной скорости сокращения миокарда (+dP/dt), а также на удлинение электрической систолы сердца, что может привести к нарушению ритма сердечной деятельности. О токсическом эффекте длительной ингаляции ДОТФ в высоких концентрациях может свидетельствовать количество необратимых эпизодов желудочковой фибрилля-

Таблица 1

Параметры сократительной активности изолированного сердца крысы после курсовой ингаляционной заправки ДОТФ в течение 60 дней (M±SE)

Группа животных	N	ДП мм.рт.ст.	Int _{мин} у.е.	ЧСС уд./мин.	ПД мм.рт.ст.	+dP/dt мм.рт.ст./с	-dP/dt мм.рт.ст./с	КДД мм.рт.ст.
Контроль	4	94,9± 28,9	1753,0± 203,0	218,6± 8,7	92,2± 9,4	2965,0± 210,8	-1583,0± 114,3	8,8± 0,7
ДОТФ MIN	6	95,1± 1,7	1889,0± 259,0	235,2± 5,0	89,1± 13,5	2989,0± 408,6	-1597,0± 223,9	9,8± 1,9
ДОТФ MED	6	88,1± 14,4	1949,0± 217,5	223,4± 11,2	96,5± 12,1	3049,0± 349,9	-1588,0± 167,9	6,7± 1,1
ДОТФ МАХ	6	91,8± 12,4	1841,0± 262,8	229,3± 6,7	91,4± 13,1	2907,0± 391,8	-1575,0± 262,6	8,3± 1,4

Таблица 2

Параметры электрической активности изолированного сердца крысы после ингаляционной заправки ДОТФ в течение 60 дней (M±SE)

Группа животных	RR Interval (s)	Heart Rate (bpm)	PR Interval (s)	P Duration (s)	QRS Interval (s)	QT Interval (s)	R Amplitude (mV)	T Amplitude (mV)
Контроль	0,283±0,012	212,7±9,2	0,051±0,004	0,018±0,001	0,015±0,002	0,042±0,005	7,865±0,704	0,405±0,237
ДОТФ min	0,263±0,010	229,4±8,1	0,052±0,005	0,019±0,001	0,017±0,002	0,045±0,009	7,729±1,075	0,594±0,423
ДОТФ med	0,280±0,023	220,7±14,970	0,056±0,004	0,019±0,001	0,018±0,001	0,050±0,005	11,990±1,256 *	0,529±0,430
ДОТФ max	0,288±0,030	214,1±18,6	0,039±0,004	0,015±0,003	0,014±0,002	0,060±0,012	10,340±1,664	1,079±0,769

Примечание: * – статистически значимое отличие от контрольной группы животных при $p < 0,05$

ции изолированного сердца крыс в период реперфузии. В группах ДОТФmax и ДОТФmed таких эпизодов было зафиксировано по два, в группе ДОТФmin фибрилляция не регистрировалась. Предпосылкой для развития фибрилляции желудочков, выявленной у части животных, может являться укорочение интервала PR, что характеризует увеличение скорости проведения возбуждения между предсердиями и желудочками.

При изучении влияния ДОТФ на устойчивость изолированного сердца крысы к ишемии и способность миокарда восстанавливать свои функции в условиях реперфузии выявлено дозозависимое изменение показателей сократимости. При отсутствии фибрилляции, вызванной применением препарата, такие показатели, как интегральная производительность, пульсовое давление, индекс сократительной функции, максимальная скорость сокращения и расслабления левого желудочка восстанавливались в цикле ишемия-реперфузия статистически значимо

лучше в экспериментальной группе ДОТФmax ($p < 0,05$) (табл. 3). В группе животных ДОТФmed статистически значимо лучше, чем в контроле, восстановился показатель интегральной производительности миокарда, а в группе ДОТФmin функциональные показатели сердца не отличались от таковых в контроле. Выявлено значительное дозозависимое снижение конечного диастолического давления в левом желудочке сердца крыс групп ДОТФmax и ДОТФmed по сравнению с контролем ($p < 0,05$) и ДОТФmin (рис. 1).

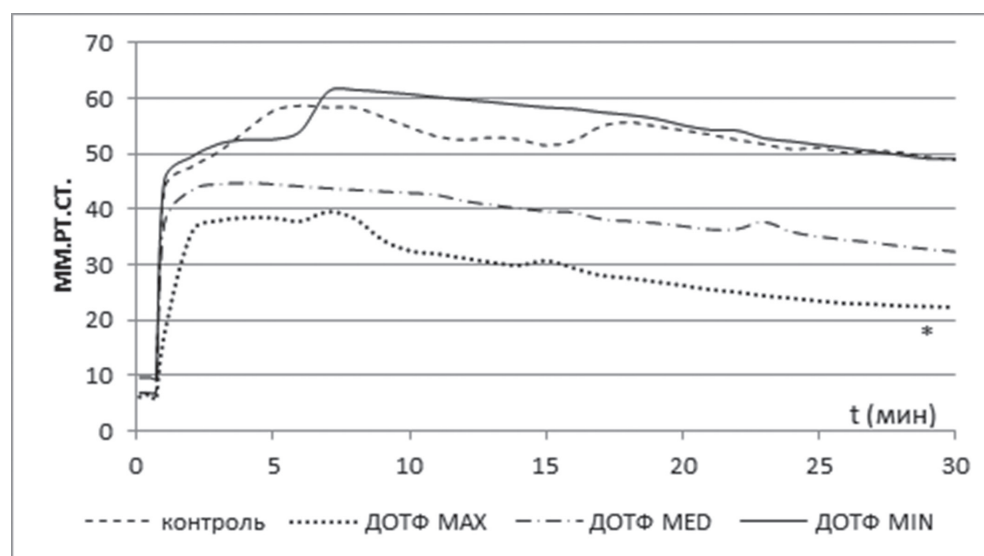


Рис. 1. Динамика конечного диастолического давления изолированного сердца крысы во время реперфузии. * – статистически значимое отличие от контрольной группы $p < 0,05$

Таблица 3

Параметры сократительной активности изолированного сердца крыс при реперфузии (% к фоновым значениям, $M \pm SE$)

Группа животных	N	ДП (%)	Int _{min} (%)	ЧСС (%)	ПД (%)	+dP/dt (%)	-dP/dt (%)	КДД мм.рт.ст.
Реперфузия кон-ль	10	76,9±11,7	55,8±6,7	91,1±7,1	53,7±7,6	58,7±7,3	70,3±7,7	48,9±5,3
ДОТФ MIN	6	76,9±22,0	73,7±15,5	104,8±3,1	60,6±13,0	66,0±14,9	70,5±12,3	48,7±9,5
ДОТФ MED	6	70,7±9,9	90,4±18,3*	88,5±6,4	88,7±20,9	88,8±21,7	100,5±19,6	32,4±7,7
ДОТФ МАХ	6	90,5±6,5	133,4±18,1*	108,1±9,3	117,3±11,1*	120,6±12,2*	127,4±9,7*	22,3±6,4*

Примечание: * – статистически значимое отличие от контрольной группы животных при $p < 0,05$

Таблица 4

Параметры сократительной активности изолированного сердца крыс под действием адреналина (Относительные данные в % к фоновым значениям, $M \pm SE$)

Группа животных	N	ДП	Int _{мин}	ЧСС	ПД	+dP/dt	-dP/dt	КДД
Адреналин Контроль	4	68,8±10,9	149,8±14,1	145,3±3,1	147,7±7,6	185,0±13,4	203,7±16,6	110±12,5
А-н ДОТФ MIN	6	79,4±11,0	140,4±9,2	126,5±8,1	151,9±10,4	184,7±7,9	207,5±13,8	128,7±14,1
А-н ДОТФ MED	6	81,6±18,6	139,9±19,1	126,9±11,4	146,0±21,5	186,0±22,4	218,8±25,3	146,5±23,9
А-н ДОТФ МАХ	5	63,5±10,1	133,5±11,9	133,4±13,4	153,1±19,0	195,7±21,3	222,0±24,3	112,2±5,0

Выявленное увеличение минутной производительности сердца в реперфузионный период при действии больших концентраций ДОТФ, может быть объяснено наблюдающимися под влиянием фталатов метаболическими изменениями в миокарде, которые сопровождаются увеличением митохондриальной массы и способствуют восстановлению энергетического баланса сердца, снижению конечно-диастолического давления и увеличению наполнения желудочков в диастолу [4].

При исследовании адренореактивности изолированного миокарда выявлена тенденция к снижению ЧСС в опытных группах животных в сравнении с контролем в среднем на 16% и увеличению КДД, свидетельствующее о неполном расслаблении миокарда в диастолу (табл. 4). Однако данные изменения не приводили к значимому снижению интегрального показателя минутной производительности миокарда в сравнении с контролем. Таким образом, затравка животных ДОТФ в течение 60 дней не оказы-

ваает существенного влияния на адренореактивность.

Заключение. Таким образом, длительная ингаляция ДОТФ не вызывает существенных изменений параметров сократительной активности сердца крыс и его адренореактивности. Результаты ЭКГ свидетельствуют о том, что во время ингаляции ДОТФ в сред-

них и высоких концентрациях может развиваться дозозависимая ишемия миокарда, очевидно, приводящая к развитию в условиях реперфузии желудочковых фибрилляций, сохраняющихся в ходе всего эксперимента. Концентрация ДОТФ 3,4 мг/м³ может считаться безопасной для сердца в исследуемом временном диапазоне.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мамонов Р.А., Федотова Л.А., Печникова И.А., Потапченко Т.Д. Токсичность диоктилтерефталата. Токсикологический вестник. 2018; 6 (153): 47–48.
2. Лаптев Д.С., Петунов С.Г., Бобков Д.В., Радилов А.С. Влияние β-эндорфина на функциональную активность изолированного сердца крысы. Роль дельта-опиоидных рецепторов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2015; 3 (55): 66–71.

REFERENCES:

1. Mamonov R.A., Fedotova L.A., Pechnikova I.A., Potapchenko T.D. Toxicity of dioctylterephthalate. Toxicological Bulletin. 2018, 6, 153, Pp. 47–48 (in Russian).
2. Laptev D.S., Petunov S.G., Bobkov D.V., Radilov A.S. The influence of β-endorphin on the functional activity of the isolated heart of rat. The role of μ- and δ-opioid receptors. Regional blood circulation and microcirculation. 2015, 3, 55, Pp. 66–71 (in Russian).
3. Nechaykina O.V., Petunov S.G., Radilov A.S. Effect of β-endorphin on contractile activity

3. Нечайкина О. В., Петунов С.Г., Радилов А.С. Влияние β-эндорфина на сократительную активность изолированных лимфатических сосудов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2013; 3 (47): 64–70.

4. Posnack N.G., Swift L.M., Kay M.W., Lee N.H., Sarvazyan N. Phthalate exposure changes the metabolic profile of cardiac muscle cells. Environ Health Perspect. 2012; 120 (9): 1243–

of isolated rat lymph vessels. Regional blood circulation and microcirculation. 2013, 3, 47, Pp. 64–70 (in Russian).

4. Posnack N.G., Swift L.M., Kay M.W., Lee N.H., Sarvazyan N. Phthalate exposure changes the metabolic profile of cardiac muscle cells. Environ Health Perspect. 2012, 120, 9, Pp. 1243–51.

D.S. Laptev, S.G. Petunov, O.V. Nechaykina, D.V. Bobkov

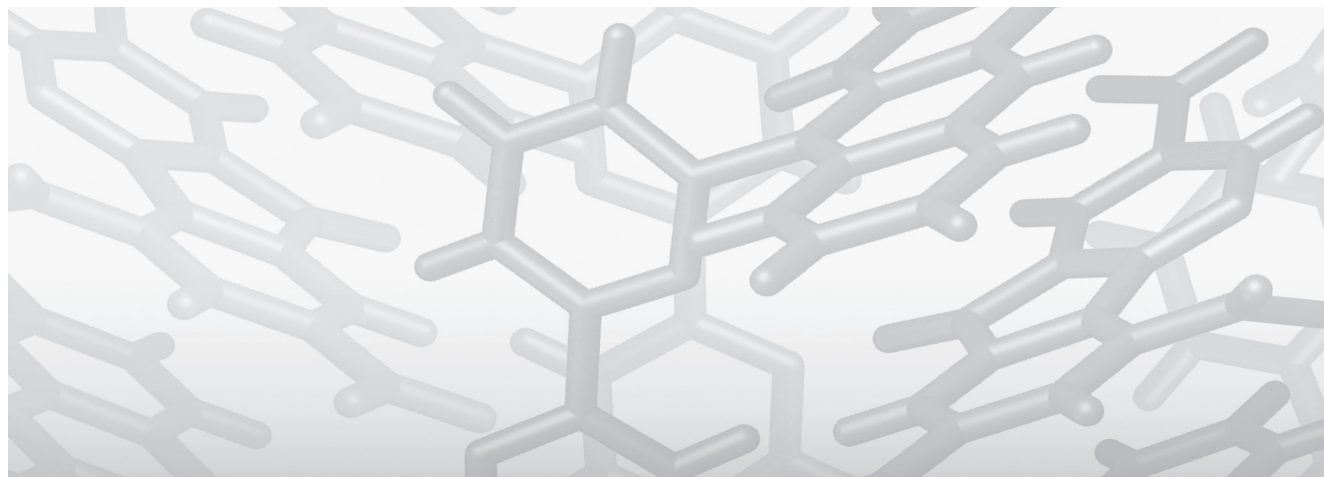
FUNCTIONAL PARAMETERS OF ISOLATED RAT MYOCARDIUM AFTER THE COURSE OF DIOCTYL TEREPHTHALATE

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, FMBA, 188663, Leningrad region, Russian Federation

The cardiotoxic effect of long-term (within 60 days) inhalation of dioctyl terephthalate at doses of 3,4; 18,6 and 96,8 mg/m³ has been studied on a model of isolated rat heart. The course administration of dioctyl terephthalate does not change the contractile activity and adrenoreactivity of the rat heart. Dioctyl terephthalate at doses of 96,8 mg/m³ and 18,6 mg/m³ contributes to the development of changes in the electrical activity of the myocardium, leading to an increase in the amplitude of the R and T waves, lengthening the QT interval and shortening the PR interval, which can cause cardiac arrhythmias in ischemic conditions. Adrenoreactivity of isolated heart does not change under the influence of dioctyl terephthalate. The data obtained indicate that the dioctyl terephthalate at concentration of 3,4 mg/m³ is safe for heart.

Keywords: *dioctyl terephthalate, isolated heart, cardiotoxicity.*

Материал поступил в редакцию 11.04.2019 г.



615.9:661.742.141

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ 3-ХЛОРПРОПИЛ- И 6-ХЛОРГЕКСИЛАКРИЛАТОВ С ОБОСНОВАНИЕМ ОБУВ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

С.И. Сычик,
В.М. Васильевич,
Р.В. Богданов,
Л.М. Бондаренко,
А.В. Буйницкая

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 220012, г. Минск, Республика Беларусь

В публикации приведены результаты изучения токсичности 3-хлорпропил- и 6-хлоргексиллакрилатов в острых (на уровне летальных и сублетальных доз и концентраций) и субхронических экспериментах (дозомонотонное поступление на уровне 0,1 DL₅₀ per os в течение 45 суток), которые позволили обосновать величину ориентировочно безопасных уровней воздействия химических веществ в воздухе рабочей зоны. Установлены научно обоснованные величины ОБУВ для 3-хлорпропилакрилата на уровне 5 мг/м³, 6-хлоргексиллакрилата - 2 мг/м³.

Ключевые слова: токсичность, 3-хлорпропилакрилат, 6-хлоргексиллакрилат, гигиенический норматив.

Введение. 3-хлорпропилакрилат (эмпирическая формула C₆H₉ClO₂, CAS: 5888-79-9) и 6-хлоргексиллакрилат (эмпирическая формула C₉H₁₅ClO₂, CAS: 133123-02-1) являются представителями одного гомологического ряда хлорированных эфиров акриловой кислоты и имеют сходную химическую структуру, отличаясь количеством метильных групп (-CH₂). При нормальных условиях представляют прозрачные жидкости с характерным запахом; плохо растворимы в воде, хорошо – в органических растворителях, в чистом виде нестабильны и реакционноспособны, поэтому хранятся и используются с добавлением ингибиторов полимеризации или стабилизаторов. Применяются для синтеза непредельных органических соединений алифатического ряда, в качестве компонентов составов для импрегнации древесины с целью ее защиты от преждевременного разрушения, а также в полупроводниковой литографии, хроматографии, в процессах регенерации жидких или газообразных фильтрующих элементов/материалов, в производстве лакокрасочных полиэфирных материалов и др.

В процессе синтеза и последующего применения хлорсодержащих эфиров акриловой кислоты существует потенциальная возможность их выделения в воздух рабочей зоны и воздействия на организм рабочих. Сведения о токсичности данных веществ в общепризнанных международных базах данных (АРИПС, eChemPortal, ChemIDplus, IPCS, INCHEM, TOXNET, PubMed, ECHA, GESTIS) отсутствуют.

Материалы и методы исследования. Токсикологические исследования хлорсодержащих эфиров акриловой кислоты выполнены на лабораторных животных трех видов (крысы, мыши и кролики-альбиносы). Острая токсичность изучена при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении на нелинейных белых крысах и мышах обоего пола, при ингаляционном воздействии – на белых крысах с использованием модели интраназального введения химических веществ [1]. Количественные параметры острой токсичности DL₅₀ (CL₅₀) определяли пробит-анализом по Литчфилду и Уилкоксоу [2]. Исследования раздражающего действия веществ на кожу

Сычик Сергей Иванович (Sychik Sergei Ivanovich), кандидат медицинских наук, доцент, директор республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», rspch@rspch.by

Васильевич Вадим Михайлович (Vasilkevich Vadim Michailovich), кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», sabas2004@mail.ru

Богданов Руслан Валерьевич (Bogdanov Ruslan Valerievich), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией промышленной токсикологии республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», T_rus@tut.by

Бондаренко Людмила Михайловна (Bondarenko Ljudmila Mihailovna), кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены»

Буйницкая Анна Васильевна (Bujnickaja Anna Vasil'evna), научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены»

проведены на белых крысах, раздражительного действия – на кроликах. Кожно-резорбтивное действие изучено посредством нанесения 20-кратных повторных аппликаций веществ на хвосты крыс («пробирочный» метод). Оценку аллергической активности выполняли в соответствии с МУ № 1.1.11-12-5-2003 [3] на модели воспроизведения сенсибилизации в тесте опухания лапы мыши. Для определения кумулятивных свойств при дозозависимом введении в желудок крыс на протяжении 45 суток была испытана доза, равная 1/10 от DL_{50} per os (метод Ю.С. Кагана и В.В. Станкевича 1964). По окончании эксперимента и на 30 сутки восстановительного периода определяли комплекс физиологических, биохимических и иммунологических показателей.

Функциональное состояние нервной системы лабораторных животных оценивали по способности суммировать подпороговые импульсы (СПП) и поведенческим реакциям (ориентировочные реакции, двигательную координацию, эмоциональную реактивность, норковый рефлекс). Гематологические показатели и морфологический состав периферической крови (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, лейкоцитарная формула, тромбоциты, цветной показатель) определяли на гематологическом анализаторе «Mindray 5300-Vet». Определение содержания общих липидов в сыворотке крови проводили колориметрическим методом по продуктам распада ненасыщенных липидов, которые образуют с сульфованилиновым реактивом соединение, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна содержанию общих липидов в сыворотке крови. Содержание белка в сыворотке крови и моче определяли унифицированным методом по Лоури, мочевины – фотометрическим методом по индикации продуктов реакции мочевины с диацетилмонооксидом в присутствии тиосемикарбазида. Активность глутатионтрансферазы (ГТ) в гемолизатах крови лабораторных животных определяли при ферментативном взаимодействии ГТ с 1-хлор-2,4-динитробензолом в присутствии глутатиона восстановленного (GSH) с образованием продукта, имеющего максимум светопоглощения при длине волны 340 нм [76]. Содержание глутатионфосфат дегидрогеназы (ГФДГ) в гомогенатах печени определяли по способности фермента катализировать дегидрирование глюкозо-6-фосфата и по восстановлению НАДФ. Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по скорости реакции убыли НАДФН при превращении окисленной формы ГР в восстановленную. Определение GSH проводили по реакции с 5,5-дифитио-бис(-нитробензойной) кислотой, в результате которой образуется окрашенный продукт.

О состоянии мочевыделительной системы экспериментальных животных судили на основании

изучения показателей, характеризующих концентрационную, выделительную, мочевинообразующую функции (суточный диурез, содержание белка, мочевины, хлоридов в моче).

У подопытных животных определяли комплекс показателей иммунологической реактивности: содержание циркулирующих иммунокомплексов и лизоцима, активность комплемента в сыворотке крови, интегральный показатель антибактериальной защиты сыворотки крови. Для оценки кислородного метаболизма в гранулоцитарно-макрофагальных клетках крови использовали наиболее информативную косвенную методику тест бессубстратного восстановления нитро-синего тетразолия (НСТ) в диформазан (НСТ-тест). Лейкоконтрат инкубировали в лунках иммунологических планшетов с добавлением красителя НСТ (спонтанный уровень), известного индуктора окислительного взрыва – опсонизированного зимозана (стимулированный уровень), и изучаемых препаратов в подобранных концентрациях. Учет производили на многоканальном спектрофотометре Multiskan EX (фирмы THERMO LABSYSTEM, Финляндия) с оценкой результатов в процентах возрастания экстинции в опытной пробе по отношению к контрольной пробе и по индексу стимуляции. Для лабораторного определения развития смешанных механизмов II-IV типов аллергических процессов применяли реакцию специфического НСТ-теста гранулоцитов крови (РСНСТ) при их стимуляции аллергеном.

Статистическая обработка экспериментальных данных выполнена параметрическими и непараметрическими методами с использованием компьютерной программы STATISTICA 10 (лиц. сер. № ВХХR207F383402FA-V). Различия в сравниваемых группах считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В результате изучения острого ингаляционного воздействия на белых крыс установлена среднесмертельная концентрация для 3-хлорпропилакрилата, равная 32000 ± 2400 мг/м³, для 6-хлоргексилакрилата – 21600 ± 2900 мг/м³. Результаты изучения острой внутрижелудочной и внутрибрюшинной токсичности приведены в таблице 1.

Таким образом, по параметрам острой внутрижелудочной и ингаляционной токсичности изученные акрилаты относятся к умеренно опасным веществам (3 класс опасности) по ГОСТ 12.1.007-76 [4]; по параметрам внутрибрюшинной токсичности – к малотоксичным соединениям (класс IV) согласно классификации К.К. Сидорова [3], характеризуются отсутствием видовой чувствительности (КВЧ менее 3,0).

В остром опыте при внутрижелудочном введении крысам установлен порог острого действия

(Lim_{ac}) по изменению поведенческих показателей ($p < 0,05$), который для 3-хлорпропилакрилата составил – 150 мг/кг, 6-хлоргексилакрилата – 200 мг/кг.

При однократном и повторном воздействии на кожные покровы изучаемые вещества оказывали слабое раздражающее действие, при контакте со слизистыми глаз 3-хлорпропилакрилат вызывал слабое раздражающее, 6-хлоргексилакрилат – умеренно выраженное действие.

Изученные акрилаты не обладают резорбтивным действием по клиническим признакам и изученным морфо-функциональным показателям. В тесте опухания лапы мыши способность изучаемых веществ вызывать сенсибилизацию не установлена, что позволяет классифицировать их по показателю аллергенной активности как вещества 4 класса опасности [3] и свидетельствует о низкой потенциальной опасности алергизирующего действия в условиях производства.

Субхроническое дозозмонотонное поступление вышеуказанных химических веществ в организм крыс не вызывало развитие материальной кумуляции по смертельным эффектам и характеризовалось признаками слабовыраженной функциональной кумуляцией (табл. 2).

Токсическое действие 3-хлорпропилакрилата проявилось статистически значимым снижением массы тела на 11 %, относительного коэффициента массы сердца на 21 % на фоне аналогичных показателей животных контрольной группы. Остальные интегральные показатели, характеризующие общую реакцию центральной нервной системы и организма крыс в целом (сумационно-пороговый показатель, двигательная и эмоциональная реактивность, ЧСС), после длительного дозозмонотонного внутрижелудочного введения

акрилатов не имели статистически значимых различий по сравнению с контролем. Макроскопически внутренние органы крыс опытных групп не отличались от таковых контрольных животных. Изменения в картине периферической крови обнаружены при введении 3-хлорпропилакрилата в виде статистически значимого снижения содержания лимфоцитов крови (на 8 %), которое может быть связано с образованием и последующим накоплением активных форм кислорода и других продуктов прооксидантного действия, способных вызвать повреждение лимфоцитарных клеток, особенно чувствительных к продуктам окислительных реакций. Усиление свободнорадикальных процессов в ответ на действие 3-хлорпропилакрилата подтверждается и другими биохимическими изменениями со стороны глутатиона клетки, что выражается в увеличении на 15 % содержания в гемолизатах крови SH-групп ($p < 0,05$) и GSH ($p < 0,05$). Вероятно, повышенное содержание GSH при воздействии 3-хлорпропилакрилата связано с ответными защитно-приспособительными реакциями, которые выражаются в адекватном уровне функционирования фермента ГР (тенденция к повышению активности на 13 %, $p = 0,1$), позволяющем поддерживать баланс между повышенным расходом в клетках восстановленного глутатиона и его биорегенерацией. Также необходимо учитывать, что увеличение содержания восстановленного глутатиона может происходить путем метаболической активизации процессов усиленного синтеза глутатиона на фоне повышения активности перекисного окисления липидов, которое зачастую развивается при поступлении в организм ксенобиотика. Субхроническая внутрижелудочная интоксикация подопытных белых крыс 6-хлоргексилакри-

Таблица 1

Параметры острой токсичности 3-хлорпропилакрилата и 6-хлоргексилакрилата при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении

Способ введения	Вид животного	3-хлорпропилакрилат		6-хлоргексилакрилат	
		DL50, мг/кг	КВЧ	DL ₅₀ , мг/кг	КВЧ
Внутри-желудочно	Крысы	1280,0±255,0	1,15	1456,0± 250,0	2,68
	Мыши	1468,0±520,0		3914,0± 605,0	
Внутри-брюшинно	Крысы	267,0±96,0	1,08	388,0±40,0	1,33
	Мыши	247,0±94,0		290,0± 50,0	

Примечание: КВЧ – коэффициент видовой чувствительности

Таблица 2

**Физиологические и морфофункциональные показатели белых крыс после субхронического
внутрижелудочного введения 6-хлоргексил- и 3-хлорпропилакрилатов**

Изучаемые показатели, ед. изм.	Контроль Ме (P25-P75)	3-хлорпропилакрилат Ме (P25-P75)	6-хлоргексилакрилат Ме (P25-P75)
Интегральные физиологические показатели			
СПП, В	1,60 (1,45-1,85)	1,75 (1,65-1,80)	1,65 (1,55-1,75)
ЧСС, уд/мин	412,1 (390,5-425,6)	425,0 (402,3-450,1)	399,8 (3,80,0-410,2)
Температура тела, °С	37,90 (37,60-38,05)	37,80 (37,60-38,00)	37,70 (37,60-37,80)
Масса исходная, г	182,0 (181,0-189,0)	180,0 (177,0-183,0)	180,0 (176,0-186,0)
Масса в конце опыта, г	266,0 (254,0-282,0)	237,0* (221,5-280,0)	253,0 (246,0-283,0)
Масса печени, г	9,73 (9,20-9,88)	6,95* (6,15-7,45);	9,80 (9,75-10,35)
Масса почек, г	1,83 (1,73-1,98)	1,73 (1,77-1,88)	1,68 (1,63-1,85)
Масса селезенки, г	1,75 (1,48-1,83)	1,70(1,43-1,80)	1,55 (1,18-1,68)
Масса сердца, г	0,95 (0,90-0,98)	0,68* (0,55-0,85);	0,85 (0,78-0,98)
Масса легких, г	2,08 (1,73-2,83)	1,80 (1,35-2,13)	2,30 (2,10-2,48)
Относительные коэффициенты массы внутренних органов, кг-3/кг:			
Печень	35,50 (33,14-37,04)	35,11 (32,16-39,02)	36,00 (35,42-37,38)
Почки	6,84 (6,19-7,30)	7,37 (6,78-7,78)	7,25 (6,80-7,67)
Селезенка	6,21 (5,30-7,00)	6,34 (5,08-7,25)	6,02 (4,98-6,90)
Сердце	3,58 (3,25-3,57)	3,35* (2,77-4,15)	3,64 (3,47-3,99)
Легкие	8,41 (6,62-10,53)	8,73 (7,15-9,98)	9,70 (8,47-10,67)
Гематологические показатели периферической крови			
Содержание эритроцитов, 10 ¹² /л	7,13 (6,97-7,57)	6,54 (6,33-7,17)	7,14 (6,90-7,44)
Содержание гемоглобина, г/л	137,5 (133,5-144,5)	129,5 (125,5-144,5)	138,5 (132,5-146,5)
Гематокрит	0,38 (0,37-0,40)	0,36 (0,35-0,41)	0,38 (0,37-0,41)
Содержание лейкоцитов, 10 ⁹ /л	19,81 (17,46-23,14)	21,36 (17,63-23,25)	23,48 (18,96-27,61)
Содержание тромбоцитов 10 ⁹ /л	858,0 (763,5-892,0)	878,5 (764,0-1016)	869,5 (735,5-889,0)
Нейтрофилы, %	15,15 (13,65-19,70)	21,30 (17,85-24,20)	18,75 (13,80-20,40)
Нейтрофилы 10 ⁹ /л	3,02 (2,48-3,99)	4,44 (3,45-5,18)	3,70 (3,54-4,27)
Лимфоциты %	74,15 (71,80-77,60)	68,05* (62,90-72,50)	70,20 (68,30-76,00)
Лимфоциты 10 ⁹ /л	14,56 (12,99-17,70)	14,14 (11,74-15,79)	16,03 (12,95-21,04)
Моноциты, %	4,25 (3,95-5,90)	5,15 (4,45-7,25)	5,50 (4,40-7,35)
Моноциты 10 ⁹ /л	0,88 (0,64-1,38)	1,09 (0,95-1,41)	1,35 (0,90-1,82)
Эозинофилы, %	3,25 (2,85-3,55)	4,00 (2,40-4,50)	2,95 (2,25-4,50)
Гематологические показатели периферической крови			

Таблица 2 (продолжение)

Эозинофилы 10 ⁹ /л	0,64 (0,48-0,77)	0,65 (0,55-0,90)	0,66 (0,56-0,88)
Базофилы, %	1,00 (0,80-1,40)	1,05 (0,95-1,30)	1,30 (0,90-1,40)
Базофилы 10 ⁹ /л	0,19 (0,15-0,34)	0,21 (0,20-0,27)	0,31 (0,20-0,38)
Биохимические показатели крови			
Содержание глюкозы, ммоль/л	4,16 (4,15-4,44)	4,20 (4,15-4,22)	4,20 (4,10-4,30)
Содержание мочевины, ммоль/л	5,62 (4,71-6,33)	5,78 (5,42-6,14)	5,33 (5,16-5,35)
Содержание хлоридов, ммоль/л	111,0 (111,0-112,5)	107,00* (101,00-111,0)	107,0* (98,00-111,0)
Содержание общего белка, г/л	75,00 (71,40-75,10)	72,00 (71,00-74,50)	77,12 (75,00-78,15)
Содержание липидов, г/л	4,09 (3,80-4,10)	3,80 (3,50-4,00)	4,10 (4,05-4,15)
Активность АЛТ мкмоль/л	0,020 (0,018-0,023)	0,020 (0,018-0,020)	0,020 (0,015-0,020)
Активность АСТ, мкмоль/л	0,100 (0,100-0,110)	0,100 (0,095-0,110)	0,090* (0,085-0,095)
Активность глутатион редуктазы, мкмоль/л	3,63 (3,00-4,18)	4,19 (4,09-4,31)	3,97 (3,48-4,24)
Активность глутатион трансферазы, мкмоль/л	0,75 (0,59-0,77)	0,81 (0,64-0,91)	0,91* (0,82-0,97);
Содержание SH-групп, мкмоль/л	118,9 (111,7-127,5)	139,2* (129,3-148,7)	123,4 (119,4-132,2)
Содержание глутатиона восстановленного, мкмоль/л	16,73 (15,50-18,00)	19,63* (18,20-20,96)	17,40 (16,83-18,62)
Содержание глутатинфосфат дегидрогеназы, мкмоль НАДФН/мин × г Нв	60,90 (55,90-64,75)	63,15 (58,95-64,85)	63,05 (59,15-64,35)
Показатели функционального состояния почек			
Диурез, л ³ /сут.	4,00 (3,75-4,25)	4,20 (4,00-4,35)	4,40 (3,73-5,75)
рН мочи	6,75 (6,53-6,97)	6,29 (6,11-6,47)	7,25 (7,00-7,50)
Содержание белка в моче, г/л	0,10 (0,09-0,11)	0,17 (0,05-0,29)	0,11 (0,09-0,15)
Содержание мочевины в моче, ммоль/л	195,1 (189,3-200,9)	223,7 (171,1-276,3)	200,0 (195,0-220,3)
Содержание хлоридов в моче, ммоль/л	9,09 (9,09-9,09)	10,83 (10,53-11,13)	9,09 (9,08-9,10)

Примечание: «*» – статистически значимые различия с контролем при p<0,05

латом характеризовалась значимыми изменениями активности АСТ (снижение на 10 %) и ГТ (увеличение на 21 %), остальные показатели не отличались от контрольных величин.

Внутрижелудочное дозозависимое поступление 3-хлорпропилакрилата и 6-хлоргексилакрилата не вызвало у опытных животных изменение спонтанного уровня генерации фагоцитами супероксидных радикалов, а также не приводило к активации в клетках уровня кислородного метаболизма при стимуляции гранулоцитов опсонизированным зимозаном, что указывает на

относительно слабую антигенную способность изученных химических веществ. Аналогично у животных опытной группы не установлено существенных изменений уровней комплементарной активности сыворотки крови, что свидетельствует об отсутствии проявлений активации механизмов алергизации организма животных по комплементзависимому цитотоксическому типу реакции (табл. 3).

Выявленные функциональные изменения следует расценивать как реализацию приспособительных возможностей организма жи-

Таблица 3

Иммунологические показатели белых крыс после субхронического внутрижелудочного введения 6-хлоргексил- и 3-хлорпропилакрилатов

Исследуемые показатели, ед. изм.	Контроль Ме (P25-P75)	3-хлорпропилакрилат Ме (P25-P75)	6-хлоргексилакрилат Ме (P25-P75)
Иммуноглобулин А, мг/мл	0,148 (0,143-0,157)	0,164* (0,152-0,181)	0,151 (0,147-0,155)
Иммуноглобулин G, мг/мл	0,855 (0,765-0,980)	0,905 (0,875-1,005)	0,725 (0,520-0,895)
Иммуноглобулин М, мг/мл	0,072 (0,070-0,075)	0,072 (0,071-0,075)	0,072 (0,068-0,078)
Тест восстановления нитро-синего тетразолия в диформаза Спонтанный ур.: -к контр.пр., %	42,00 (23,50-53,35)	40,65 (24,25-59,70)	52,90 (36,65-68,30)
Зн-стимулир. ур.: - к контр.пр., %	78,25 (45,75-130,6)	67,70 (56,00-92,80)	84,65 (77,15-88,50)
-индекс стим., ед.	1,30 (1,10-1,38)	1,17 (1,11-1,38)	1,19 (1,13-1,24)
Величина фагоцитарного резерва, %	48,80 (12,30-53,25)	24,20 (15,15-52,55)	29,90 (17,75-35,55)
Содержание циркулирующих иммунокомплексов, усл.ед.	42,50 (40,50-48,00)	43,00 (40,00-45,00)	50,00* (48,00-52,00)
Комплементарная активность сыв. крови, усл.ед.	7,21 (6,86-10,70)	8,66 (6,99-12,20)	8,69 (7,04-15,55)
Лизоцим, %	40,00 (37,90-43,55)	43,25 (32,55-47,15)	40,15 (33,40-46,95)
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	86,60 (79,20-92,80)	89,80 (84,00-96,80)	83,20 (75,20-93,60)
Реакция специфического восстановления НСТ-красителя в диформаза: - 3-хлорпропилакрилат - отн. ур-нь, % индекс стимул., ед.	18,25 (3,75-31,05) 0,89 (0,75-0,91)	17,95(12,45-34,15) 0,87 (0,81-0,92)	- -
- 6-хлоргексилакрилат - отн. ур-нь, % индекс стимул., ед.	33,60 (19,55-4,25) 0,97 (0,91-1,02)	- -	6,30 (24,40-68,25) 0,92 (0,83-1,07)

Примечание: «*» – статистически значимые различия с контролем при $p < 0,05$

вотных, обеспечивающих его нормальную жизнедеятельность, т.к. они носили преимущественный обратимый характер и не отмечались после 30 дней восстановительного периода.

Таким образом, обнаруженные у лабораторных животных морфо-функциональные изменения интегральных показателей (масса тела), морфологического состава клеток периферической крови (содержание лимфоцитов), показателей глутатионопосредованной системы антиоксидантной защиты (концентрация SH-групп, глутатиона восстановленного и активность глутатионтрансферазы в гемолизатах крови) свидетельствуют о проявлениях общетоксического действия 3-хлорпропилакрилата и 6-хлоргексилакрилата и активизации

процессов антиоксидантной защиты, позволяющих адаптироваться и адекватно реагировать на дозозависимое поступление в организм хлорсодержащих эфиров акриловой кислоты.

Заключение. На основании результатов экспериментальных исследований по логарифмическим уравнениям, приведенным в методических рекомендациях МР 118-00-10-2000 [6], проведен расчет ОБУВ в воздухе рабочей зоны, в котором учтена закономерность изменения токсичности и опасности среди химических веществ, являющихся представителями одного гомологического ряда (правило Ричардсона). Установлена научно обоснованная величина ОБУВ для 3-хлорпропилакрилата на уровне 5,0 мг/м³, 6-хлоргексилакрилата – 2,0 мг/м³.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды: метод. указания № 5789/ 1-91. М.; 1993.
2. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз; 1963.
3. Требования к постановке экспериментальных исследований по изучению аллергенных свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы: метод. указания № 1.1.11-12-5-

2003. В кн.: Филонов В.П., Соколов С.М., ред. Сборник официальных документов по медицине труда и производственной. Минск; 2004. 133-56.
4. ГОСТ 12.1.007-76. ССТБ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. Минск: БелГИСС; 2008.
5. Измеров Н.Ф., Саночкин И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии: справочник. М.: Медицина; 1977.
6. Экспериментальное обоснование и расчет ОБУВ вредных веществ в воздухе рабочей зоны: метод. рекомендации МР 118-00-10-2000. Минск; 2010.

REFERENCES:

1. Methodological instructions for the experimental substantiation of the MPC of microorganisms-producers and the finished forms of preparations containing them in the objects of production and the environment: methodological instructions No 5789/ 1-91. Moscow; 1993 (in Russian).
2. Belen'kiy M.L. Elements of quantitative evaluation of the pharmacological effect. Leningrad: Medgiz; 1963 (in Russian).
3. Requirements for the formulation of experimental studies on the study of allergenic properties and the justification of the maximum allowable concentrations of chemical allergens in the air of the working area and atmosphere: methodological instructions No 1.1.11-12-5-2003. In: Filonov V.P., Sokolov S.M., eds. Collection of official documents on

- occupational medicine and production. Minsk; 2004. 133-56 (in Russian).
4. State Standard 12.1.007-76. SSTB. Noxious substances. Classification and general safety requirements. Minsk: BelGISS; 2008 (in Russian).
5. Izmerov N.F., Sanotskiy I.V., Sidorov K.K. Toxicometry parameters of industrial poisons upon single exposure: a handbook. Moscow: Meditsina; 1977 (in Russian).
6. Experimental justification and calculation of hazardous materials in the air of the working area Experimental justification and calculation of the indicative safe exposure levels of harmful substances in the air of the working area: guidelines: methodological recommendations MR 118-00-10-2000. Minsk; 2010 (in Russian).

S.I. Sychik, V.M. Vasilkevich, R.V. Bogdanov, L.M. Bondarenko, A.V. Bujnickaja

STUDY OF THE TOXIC PROPERTIES OF 3-CHLOROPROPYL AND 6-CHLOROHEXYL ACRYLATES WITH JUSTIFICATION OF APPROXIMATELY SAFE LEVEL OF EXPOSURE IN THE AIR OF THE WORKING AREA

Scientific Practical Centre of Hygiene, Ministry of Health of the Republic of Belarus, 220012, Minsk, Republic of Belarus

The article presents the results of the study on toxicity of 3-chloropropyl and 6-chlorohexyl acrylates in acute (at the level of lethal and sublethal doses and concentrations) and subchronic experiments (dose-monotone intake at the level of 0.1 DL₅₀ per os for 45 days), which allowed to justify the value of approximately safe levels of exposure for chemicals in the air of the working area. Scientifically substantiated values of approximately safe exposure levels for 3-chloropropyl acrylate at 5 mg/m³ and for 6-chlorohexyl acrylate at 2 mg/m³ have been established.

Keywords: toxicity, 3-chloropropyl acrylate, 6-chlorohexyl acrylate, hygienic standard.

Переработанный материал поступил в редакцию 07.10.2019 г.

УДК 615.2:547

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПЕПТИДОВ НА НАРУШЕНИЯ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА У КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ МОРФИНОМ

Н.А. Белякова¹, Е.Ю. Бонитенко²,
А.В. Носов¹

¹ФГБУН ИТ ФМБА России Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²ФГБНУ НИИ МТ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова», 105275, г. Москва, Российская Федерация

Цель исследования – оценить влияние дельта-сон индуцирующего пептида (ДСИП) или аналога фрагмента АКТГ4-10 (ФАКТГ) на изменения эстрального цикла крыс, вызванные длительным назначением морфина. Установлено, что интраназальное введение ДСИП либо ФАКТГ в течение 14 дней не приводило к значимым изменениям эстрального цикла у половозрелых самок инбредных крыс. Введение морфина в дозе 60 мг/кг в течение 60-и дней сопровождалось статистически значимым изменением длительности и структуры эстрального цикла у подопытных животных: уменьшением длительности течкового периода до $1,50 \pm 0,17$ суток и увеличением межтечкового до $8,30 \pm 0,80$ суток, а также общей продолжительности эстрального цикла до $9,60 \pm 0,65$ суток. В свою очередь, применение ДСИП и ФАКТГ в течение 14 дней после введения морфина в дозе 60 мг/кг в течение 60-и дней приводило к нормализации структуры и длительности эстрального цикла у половозрелых самок инбредных крыс.

Ключевые слова: морфин, нейропептиды, дельта-сон индуцирующий пептид, фрагмент адренкортикотропного гормона, эстральный цикл, репродуктивная функция.

Введение. В последние годы в Российской Федерации, с одной стороны все более широко стали использоваться опиаты при лечении хронического болевого синдрома у не онкологических больных [2], а с другой, в связи с успехами в лечении наркотической зависимости существенно возросло число обращений за медицинской помощью женщин с нарушениями репродуктивной функции, возникшими после предшествовавшего длительного приема наркотических анальгетиков.

Причинами подобных нарушений у данных контингентов пациентов могут быть самые разнообразные расстройства соматического и психического здоровья возникающие, в том числе и на фоне соматических заболеваний [2,3,4]. В клинических исследованиях было показано, что морфин также как и другие опиаты, часто провоцирует гормональный дисбаланс у женщин, выраженность которого зависит от дозы и наблюдается как у тех, кто использует

морфин в терапевтических целях, так и у наркоманов, применяющих его рекреационно, а также после отмены наркотических анальгетиков. Причиной развития гормонального дисбаланса является нарушение выработки гормонов в гипоталамо-гипофизарной системе и как следствие этого развитие вторичной дисфункции яичников, что в свою очередь проявляется отсутствием месячных и бесплодием.

Учитывая механизмы развития нарушений репродуктивной функции возникающих после длительного применения наркотических анальгетиков в качестве перспективных средств их коррекции могут быть рассмотрены нейропептиды, и, в частности, препараты дельта-сон индуцирующего пептида (ДСИП) и аналога фрагмента 4–10 адренкортикотропного гормона (ФАКТГ) [5].

Цель исследования – оценить влияние ДСИП и ФАКТГ на изменения эстрального цикла крыс вызванные длительным приемом морфина.

Белякова Наталия Александровна (Belyakova Nataliya Alexandrovna), старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», bla3316@mail.ru

Бонитенко Евгений Юрьевич (Bonitenko Evgeniy Yur'evich), доктор медицинских наук, руководитель проекта ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова»

Носов Андрей Викторович (Nosov Andrey Victorovich), доктор медицинских наук, доцент, ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»

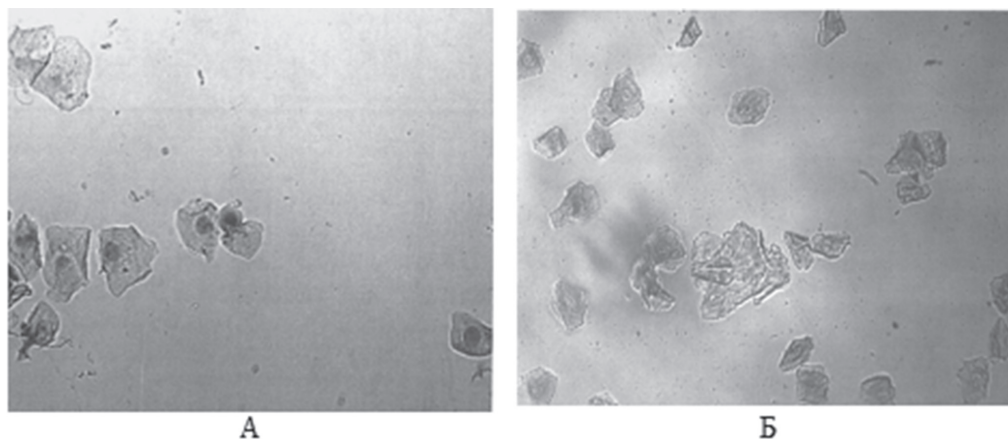


Рис. 1. Влагалищные мазки соответствующие течковому периоду: фаза проэструса (А) и фаза эструса (Б)

В рамках настоящего исследования для оценки влияния длительного приема наркотических анальгетиков, а также последующего применения нейропептидов на репродуктивную функцию крыс была выбрана оценка структуры и длительности эстрального цикла основанная на определении клеточной картины влагалищного мазка. Указанная методика позволяет оценить интенсивность обменных процессов связанных с регуляцией и функционированием репродуктивной системы [5].

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены в весенне-летний период на белых нелинейных самках крыс разведения ФГУП «ПЛЖ «Рапполово», средней массой $200,0 \pm 10,0$ г. Перед проведением исследования животные подвергались карантину в течение 14 дней. Во время карантина и в процессе исследования животные содержались на стандартном водном и пищевом рационе в отдельном помещении.

Исследование было выполнено в три этапа. На первом этапе осуществлялось формирование групп животных с синхронизированными эстральными циклами. Для этого у половозрелых инбредных крыс самок оценивали ритмичность функционирования яичников. Оценку фаз эстрального цикла производили при помощи цитологического анализа влагалищных мазков животных, основываясь на определении клеточной картины влагалищных выделений, соответствующих определенной стадии полового цикла. Забор материала для исследования производили с помощью прикосновения ватно-марлевым тампоном к боковой стенке влагалища крысы. Взятый материал переносили на предметное стекло и анализировали с помощью светового микроскопа, после окраски 0,5% спиртовым раствором метиленового синего.

Как известно, для каждой стадии полового цикла самок крыс присуща определенная клеточная картина влагалищного мазка. Так, в стадии проэструса при микроскопии влагалищных выделений определяются расположенные поодиночке или небольшими группами многоугольные или округлые эпителиальные клетки с зернистой цитоплазмой и крупным ядром (рис. 1А). В фазе эструса в мазке определяются скопления крупных ороговевших безъядерных клеток, имеющих вид чешуек неправильной формы. При этом лейкоциты и эпителиальные клетки в мазке отсутствуют (рис. 1Б). В стадии метаэструса мазок содержит, кроме ороговевших чешуек, лейкоциты и единичные эпителиальные клетки. В конце стадии преобладают лейкоциты, появляется слизь и исчезают чешуйки (рис. 2А). В свою очередь диэструс характеризуется значительным количеством слизи и множеством лейкоцитов (рис. 2Б).

На основании цитологического анализа влагалищных мазков определяли общую длительность эстрального цикла, длительность течкового и межтечкового периодов. Кроме того, рассчитывали коэффициент проэструса – эструса ($K(p+э)$) и метаэструса – диэструса ($K(m+d)$) по формуле (1):

$$K = a/b \times 100\% \quad (1),$$

где K – коэффициент периода цикла (%), a – количество дней, приходящихся на данный период цикла за время наблюдения, b – общая длительность полных циклов в сутках.

На втором этапе изучалось влияние нейропептидов ДСИП и ФАКТГ на длительность эстрального цикла у интактных животных. Участвующие в эксперименте животные были распределены по группам. При рандомизации групп в качестве основного критерия использовали массу тела (отклонение массы тела в группы не более 10%):

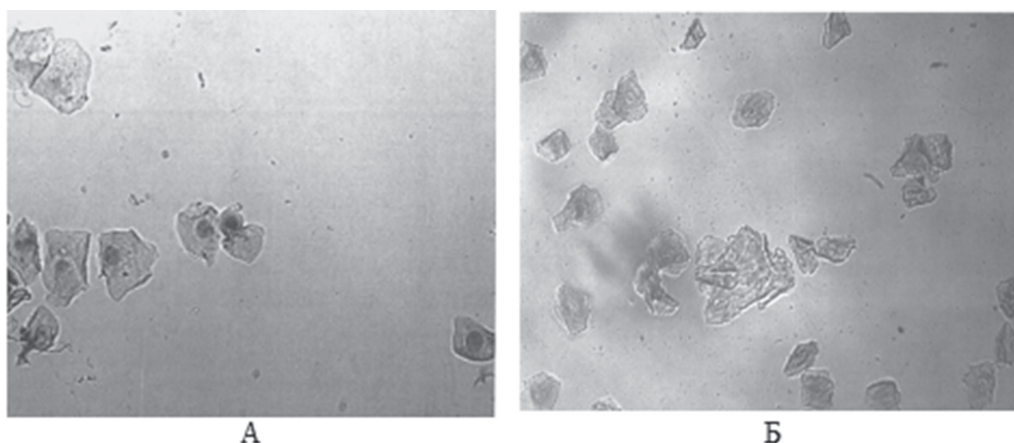


Рис. 2. Влагищные мазки соответствующие межтечковому периоду: фаза диэструса (А) и метаэструса (Б)

Таблица 1

Влияние нейропептидов на эстральный цикл инбредных половозрелых крыс самок ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных		
	Контроль (n = 20)	ДСИП (n = 19)	ФАКТГ (n = 15)
Общая длительность эстрального цикла, сутки	4,10 ± 0,09	4,20 ± 0,13	4,40 ± 0,16
Длительность течкового периода, сутки	1,95 ± 0,05	1,90 ± 0,10	1,80 ± 0,13
Длительность межтечкового периода, сутки	2,15 ± 0,08	2,30 ± 0,19	2,60 ± 0,17
К(п+э), %	48,00 ± 1,27	46,00 ± 2,74	41,50 ± 2,80
К(м+д), %	52,00 ± 1,27	54,00 ± 3,03	58,50 ± 2,80
Отношение межтечкового/течковому периоду	1,10	1,21	1,44

1. Контрольную;
2. Опытную, получавшую интраназально в течение 14-и дней ДСИП в дозе 300 мкг/кг;
3. Опытную, получавшую интраназально в течение 14-и дней ФАКТГ в виде 0,1% раствор в дозе 300 мкг/кг.

После окончания введения препаратов у самок повторно брали мазки для определения стадии эстрального цикла.

На третьем этапе изучалось длительность эстрального цикла у самок крыс получавших в течение 3-х месяцев (90-и дней) перорально морфин в дозе 60 мг/кг и влияние на него введения ДСИП и ФАКТГ в течение 14 дней после окончания введения морфина. Рандомизации групп так же проводилась по массе тела животных.

Были сформированы следующие группы:

4. Контрольная, получавшая морфин в дозе 60 мг/кг в течение 3-х месяцев;
5. Опытная, получавшая в течение 3х месяцев морфин в дозе 60 мг/кг и после чего ин-

траназально в течение 14-и дней ДСИП в дозе 300 мкг/кг;

6. Опытная, получавшая в течение 3-х месяцев 60-и морфин в дозе 60 мг/кг и после чего интраназально в течение 14-и дней ФАКТГ в дозе 300 мкг/кг.

Животным контрольных групп вводили интраназально воду для инъекций в эквивалентном объеме.

После окончания введения препаратов у самок так же повторно брали мазки для определения стадии эстрального цикла.

Статистическая обработка результатов производилась с использованием критерия t Стьюдента (для параметров, распределение которых соответствовало нормальному) и критериев Уилкоксона и Манна-Уитни (в случае не нормального распределения).

Результаты и обсуждение. При исследовании длительности и структуры эстрального цикла на I-ом этапе было установлено, что 80,0% самок крыс имели устойчивый 4-х дневный цикл,

Таблица 2

Влияние морфина и пептидных препаратов на эстральный цикл инбредных половозрелых крыс самок ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных			
	Контроль (n = 23)	Морфин (n = 16)	Морфин+ ДСИП (n = 15)	Морфин+ ФАКТГ (n = 16)
Общая длительность эстрального цикла, сутки	4,10 ± 0,09	9,60 ± 0,65*	4,20 ± 0,13#	4,70 ± 0,26#
Длительность течкового периода, сутки	1,93 ± 0,05	1,30 ± 0,17*	1,80 ± 0,13#	1,80 ± 0,13#
Длительность межтечкового периода, сутки	2,17 ± 0,07	8,30 ± 0,80*	2,40 ± 0,12#	2,90 ± 0,21#
К (п+э),%	48,00 ± 1,27	16,89 ± 2,80	43,00 ± 2,31	39,17 ± 2,67
К (м+д),%	52,00 ± 1,27	84,77 ± 3,14	57,00 ± 2,31	60,83 ± 2,67
Отношение межтечкового / течковому периоду	1,12	5,53	1,33	1,61

Примечание: * – различие с контролем достоверно ($p < 0,05$); # – различие с группой получавшей морфин достоверно ($p < 0,05$).

в то время как у 5,0 и 15,0% он составлял в среднем 3 и 5 дней соответственно. Для проведения исследования были отобраны животные с синхронизированным эстральным циклом. Эстральный цикл отобранных крыс составлял 4-е дня и состоял из 4-х фаз: проэструса (предтечки), эструса (течки), метаэструса (послетечки) и диэструса (межтечки или стадия покоя). При 4-х дневном эстральном цикле (на течковый (проэстру и эструс), и межтечковый (метаэструс и диэструс) периоды приходилось по 2-е суток, что соответствовало данным, полученным другими авторами [8].

Результаты, полученные при выполнении II-ого этапа исследования, изучении влияния пептидных препаратов на длительность и структуру эстрального цикла у интактных животных, представлены в таблице 1.

Так в группе №2, получавшей ДСИП было выявлено 84,2% самок с 4-х и 15,8% с 5-и дневным эстральным циклом. В свою очередь у крыс, получавших ФАКТГ (группа №3) 4-х дневный цикл был зарегистрирован в 73,3%, а 5-и дневный в 26,7% случаев соответственно. Обращало на себя внимание уменьшение коэффициентов проэструса–эструса и увеличе-

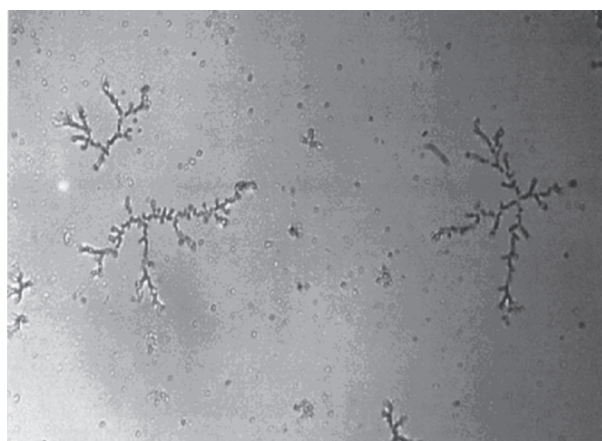


Рис. 3. Влагалищный мазок взятый в межтечковый период у животных длительно получавших морфин

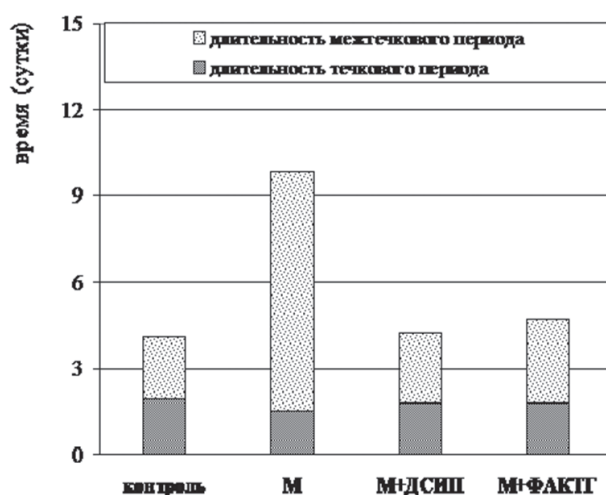


Рис. 4. Структура эстрального цикла у животных получавших пептидные препараты после длительного введения морфина (М)

ние метаэструса–диэструса, а также отношения межтечкового/течковому периоду в группе получавшей ФАКТГ по сравнению с контролем (группа №1), однако указанные изменения не носили значимого характера ($p > 0,05$).

Полученные при выполнении II-ого этапа результаты в целом свидетельствуют о том, что использованные нейропептиды не оказывали значимого влияния на структуру и длительность эстрального цикла у интактных животных.

На III-ем этапе изучались изменения эстрального цикла вызванные длительным введением морфина, а также возможность использования пептидных препаратов для их коррекции. Было установлено, что длительное введение морфина приводило к существенному изменению как длительности, так и структуры эстрального цикла, а также влагиалищного содержимого в межтечковой стадии эстрального цикла (рис. 3).

После введения морфина в дозе 60 мг/кг в день в течение 2-х месяцев, эстральный цикл у самок составлял от 4 до 12 дней (группа №4). В этой группе только в 18,8% животных был зарегистрирован 4-х дневный эстральный цикл, у остальных 81,2% он составил в среднем 9,6 суток. Для этой группы было характерно уменьшение длительности течкового периода полового цикла до $1,50 \pm 0,17$ суток и увеличение межтечкового до $8,30 \pm 0,80$ суток ($p < 0,05$). В свою очередь последнее было обусловлено как увеличением длительности метаэструса, так и диэструса (табл. 2, рис. 4). О выраженности изменений свидетельствовали как значения коэффициентов проэструса–эструса и метаэструса–диэструса, которые составили

$16,89 \pm 2,80$ и $84,77 \pm 3,14\%$ соответственно, а также увеличение отношения межтечкового/течковому периоду до 5,53, что в 4,94 раза выше, чем в контрольной группе.

В свою очередь применение пептидных препаратов после хронического введения морфина оказывало существенное влияние на длительность и структуру эстрального цикла измененного применением последнего. Так, было установлено, что применение ДСИП и ФАКТГ уменьшало продолжительность полового цикла у крыс до 4-х суток в 86,7 и 68,8% случаев соответственно. За счет чего длительность эстрального цикла в этих группах стала сопоставима с показателями полученными в контроле (рис. 4). В свою очередь отношение межтечкового к течковому периоду эстрального цикла у животных получавших ДСИП и ФАКТГ составили 1,33 и 1,63 по сравнению с контрольной группой соответственно.

Выводы. 1. Интранозальное введение ДСИП и ФАКТГ в течение 14 дней в выбранных дозах не приводило к значимым изменениям эстрального цикла у половозрелых самок инбредных крыс.

2. Введение морфина в дозе 60 мг/кг в течение 3-х месяцев приводило к существенным изменениям длительности и структуры эстрального цикла у подопытных животных: уменьшение длительности течкового периода до $1,50 \pm 0,17$ суток и увеличение межтечкового до $8,30 \pm 0,80$ суток и общей продолжительности полового цикла до $9,60 \pm 0,65$ суток.

3. Применение ДСИП и ФАКТГ в течение 14 дней после введения морфина в дозе 60 мг/кг в течение 3-х месяцев приводило к нормализации структуры и длительности эстрального цикла у половозрелых самок инбредных крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schrijvers D., van Fraeyenhove F. (2010). Emergencies in palliative care. *Cancer J.* 2010; Vol.16, № P. 514–520.
2. Поллова К. М., ред. Введение в репродуктивную эндокринологию. М: Меридиан, 2000.
3. Кулаков В.И., Леонова В.Б., Кузьмичева Л.Н., ред. Лечение женского и мужского бесплодия. М.: МИА, 2005.
4. Weller Y., Theis M., Zawta B. Useful facts about reproductive medicine fertility testing. question and answers. Dresden: Roshe Diagnostics GmbH, 20
5. Белякова Н.А., Бонитенко Е.Ю., Носов А.В., Генералова К.Р., Лисицкий Д.С. Влияние нейропептидов на репродуктивную функцию самок неинбредных крыс. *Биомедицинский журнал* Medline. ru. 2019. Т.20, №С.1–16.
6. Котельников А.В., Котельникова С. В. Характеристика эстрального цикла белых крыс на разных этапах онтогенеза при введении витамина Е. *Вестник Астраханского государственного технического университета.* 2012, №С. 25 – 27.
7. Савченко О.Н., Арутюнян Н.А., Степанов М.Г. Экспериментальное бесплодие. СПб.: Наука, 19
8. Зарубина Е.Г., Лысова А.Н. Роль кисспептина в нормализации эстрального цикла взрослых половозрелых самок крыс. *Электронный научный журнал ISSN2070-74Раздел «Медицинские науки».* 20

REFERENCES:

1. Schrijvers D., van Fraeyenhove F. (2010). Emergencies in palliative care. *Cancer J.* 2010; Vol.16, No. P. 514-520.
2. Pollova K. M., ed., Introduction to reproductive endocrinology. M: Meridian, 2000 (in Russian).
3. Kulakov V. I., Leonova V. B., Kuzmicheva L. N., ed. Treatment of female and male infertility. M.: MIA, 2005 (in Russian).
4. Weller Y., Theis M., Zawta B. Useful facts about reproductive medicine fertility testing. The question and answers. Dresden: Roshe Diagnostics GmbH, 20
5. Belyakova N. A., Bonitenko E. Yu., Nosov A.V., Generalova K. R., Lisitsky D. S. Influence of neuropeptides on reproductive function in female noninbred rats. *Biomedical journal Medline. ru.* 2019, Vol. 20, No. 1, Pp. 1-16 (in Russian).
6. Kotelnikov A.V., Kotelnikova S. V. Characteristics of the estrous cycle in white rats at different stages of ontogenesis with the introduction of vitamin E. *Bulletin of the Astrakhan State Technical University.* 2005, T2, No. Pp. 25 – 27 (in Russian).
7. Savchenko O. N., Arutyunyan N. A., Stepanov M. G. Experimental infertility. SPb.: Science, 1992 (in Russian).
8. Zarubina E. G., Lysova A. N. Role of kisspeptin in the normalization of the estrous cycle in adult mature female rats. *The electronic scientific journal ISSN2070-74The category of «Medical science».* 2015 (in Russian).

N.A. Belyakova¹, E.Yu. Bonitenko², A.V. Nosov¹

NEUROPEPTIDES EFFECTS ON RAT ESTROUS CYCLE DISORDERS CAUSED BY MORPHINE

¹Institute of Toxicology of the Federal Medical-Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

²N.F. Izmerov Research Institute of Occupational Health, 105275, Moscow, Russian Federation

The aim of the study was to evaluate the influence of the Delta sleep-inducing peptide (DSIP) or the analogue of the adrenocorticotropin4-10 fragment (FACTH) on changes in the estrous cycle of rats caused by long-term administration of morphine. It has been found that the intranasal administration of DSIP or FACTH for 14 days did not lead to significant changes in the estrous cycle in mature female inbred rats. The introduction of morphine at a dose of 60 mg/kg for 60 days was accompanied by a statistically significant change in the duration and structure of the estrous cycle in experimental animals: a decrease in the duration of the estrus period to $1,50 \pm 0,17$ days and an increase in interintegration to $8,30 \pm 0,80$ days, as well as the total duration of the estrous cycle up to $9,60 \pm 0,65$ days. In turn, the use of DSIP and FACTH for 14 days after the administration of morphine at a dose of 60 mg/kg for 60 days led to the normalization of the structure and duration of the estrous cycle in mature female inbred rats.

Keywords: *morphine, neuropeptides, Delta sleep-inducing peptide, adrenocorticotropic hormone fragment, estrous cycle, reproductive function.*

Материал поступил в редакцию 17.06.2019 г.



КОНКУРС НАУЧНЫХ РАБОТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ

ЛУЧШАЯ РАБОТА В ОБЛАСТИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

УДК 615.076.9:615.91

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ АМИНОФТАЛГИДРАЗИДА НА КЛЕТКИ ПЕЧЕНИ ПРИ ДИФФУЗНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

З.А. Шафигуллина^{1,2}, И.Г. Данилова^{1,2},
И.Ф. Гетте^{1,2}, В.Г. Сенцов³, М.Т. Абидов¹

¹ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина», Институт естественных наук и математики, Департамент биологический факультет, кафедра медицинской биохимии и биофизики, 620002, г. Екатеринбург, Российская Федерация

²ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук», лаборатория морфологии и биохимии, 620049, г. Екатеринбург, Российская Федерация

³ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

На модели диффузного токсического повреждения печени тетрахлорметаном (CCl₄) и его коррекции аминокфталгидразидом (АФГ) проведена комплексная оценка роли стромальных клеток в регенераторных процессах. Установлено, что иммуномодулирующее действие аминокфталгидразида проявляется в снижении лейкоцитарной инфильтрации, происходит резкое уменьшение уровня CD45⁺ до значений интактных животных на 7, 14 сутки эксперимента. Снижается также и количество CD3⁺ лимфоцитов, тучных клеток (ТК) и площади, занимаемой коллагеном. Поскольку введение АФГ способствует снижению CD45⁺, CD3⁺, но при этом количество синусоидальных клеток (СК) возрастает по сравнению с группами животных, получавших только CCl₄, можно предположить, что снижение токсического действия CCl₄ связано с изменением числа и функциональной активности СК, которая направлена на снятие воспалительной реакции и восстановление печеночной ткани после токсического повреждения.

Ключевые слова: тетрахлорметан, печень, лимфоциты, синусоидальные клетки, тучные клетки, коллаген.

Введение. Высокая распространенность заболеваний печени (токсические, вирусные гепатиты, печеночная недостаточность, цирроз) делает актуальным поиск новых методов лечения заболеваний гепатобилиарной системы. CCl₄ – высокотоксичный химический агент, самый извест-

ный препарат, используемый для моделирования экспериментального токсического гепатита. Известно, что CCl₄ индуцирует фиброз, цирроз и гепатокарциному [1, 2]. Токсическое действие CCl₄ связано с трихлорметильным радикалом, образующимся во время окислительного стресса [3].

Шафигуллина Злата Александровна (Shafigullina Zlata Aleksandrovna), аспирант Уральского федерального университета имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Институт естественных наук и математики; младший научный сотрудник Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, zлата_pyankova@mail.ru

Данилова Ирина Георгиевна (Danilova Irina Georgievna), доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией морфологии и биохимии Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН; заведующая кафедрой медицинской биохимии и медицинской биофизики Уральского федерального университета имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, ig-danilova@yandex.ru

Гетте Ирина Федоровна (Gette Irina Fedorovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, i.goette@yandex.ru;

Сенцов Валентин Геннадьевич (Sencov Valentin Gennadievich), доктор медицинских наук, профессор кафедры анестезиологии, реаниматологии, токсикологии и трансфузиологии УрГМА, 620014, г. Екатеринбург, sencov-tox@yandex.ru;

Абидов Муса Тажудинович (Abidov Musa Tazhudinovich), доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», alina144@mail.ru

Гибель гепатоцитов приводит к высвобождению связанных с повреждением молекулярных паттернов (DAMP), которые запускают врожденный иммунный ответ.

Токсическое повреждение печени сопровождается развитием воспалительной реакции. Одним из проявлений воспаления является активация клеточных элементов, синтезирующих коллаген и гликозаминогликаны. Известно, что в регуляции восстановительных процессов при повреждении печени участвуют клеточные элементы соединительной ткани, в частности, тучные клетки (мастоциты). ТК являются биологическими регуляторами, поскольку могут синтезировать цитокины, молекулы адгезии, гликозаминогликаны, участвуют во всех фазах воспаления, регулируют репаративные процессы в различных органах [4]. Неадекватное количество и (или) функциональная активность ТК может сопровождаться нарушением соотношения фаз воспалительного процесса и проявляться в виде увеличения некротизированных клеток, развития цирроза и как следствие, угнетением регенераторных процессов в печени.

Врожденный иммунный ответ сопровождается привлечением эффекторных клеток в поврежденную печень [5]. Показано, что количество инфильтрующей ткани нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, тучных клеток увеличивается после повреждения печени, вызванного введением гепатотоксиканта, такого как CCl_4 [6]. Привлечение и расширение популяции тканевых макрофагов в месте повреждения обеспечивает эффективный фагоцитоз и способствует регенерации гепатоцитов [7].

Экспериментальные модели на животных показывают, что моноциты / макрофаги важны не только для прогрессирования фиброза, но и для регрессии фиброза, поскольку макрофаги также могут разрушать белки внеклеточного матрикса и оказывать противовоспалительное действие [8]. Принимая во внимание тот факт, что макрофаги обладают высокой пластичностью, при которой одни и те же клетки могут участвовать как в развитии повреждения гепатоцитов при токсическом воздействии, так и в разрешении воспаления, направленное воздействие на макрофаги может являться перспективной терапевтической стратегией в лечении токсического гепатита. [8,9]. В связи с этим, *цель настоящего исследования* – оценить состояние клеточного компонента печени и его участие в регенераторных процессах при токсическом повреждении и на фоне коррекции АФГ.

Материалы и методы исследования. Эксперимент по моделированию диффузного токсического повреждения печени был выполнен на 60 крысах-самцах линии Wistar массой 180 ± 10 г,

одобрен локальным этическим комитетом Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (г. Екатеринбург, Россия) и соответствует принципам, сформулированным в Директиве 2010/63/ЕС Европейского парламента и Европейского Совета от 22 сентября 2010 года о защите животных, используемых в научных целях (Официальный журнал Европейского союза, 2010 г.). Животные, используемые в исследовании, содержались в одинаковых условиях по 5 крыс в клетке на обычном рационе вивария со свободным доступом к пище и воде и температурным режимом $20 \pm 2^\circ C$.

Были сформированы следующие экспериментальные группы животных: интактная, CCl_4 3 сутки, CCl_4 7 сутки, CCl_4 , 14 сутки, CCl_4 + АФГ 3 сутки, CCl_4 + АФГ 7 сутки, CCl_4 + АФГ 14 сутки. Для создания модели диффузного токсического повреждения печени использовали масляный раствор CCl_4 , который вводили животным экспериментальных групп однократно внутривентриально в дозе 50 мг/100 г массы тела. Инъекции аминоталгидразида экспериментальным животным осуществлялись в течении всего эксперимента внутримышечно из расчета 2 мг/кг. АФГ обладает противовоспалительными, иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами. Его основные фармакологические эффекты обусловлены способностью воздействовать на функционально-метаболическую активность макрофагов и восстанавливать их антигенпрезентирующую и секреторную функции [10]. К группам с CCl_4 -воздействием и с применением АФГ были сформированы контрольные группы животных, которым вводили аналогичные дозы масляного раствора и 0,85% раствора хлорида натрия соответственно. Интактную группу составляли здоровые животные. Животных опытных групп выводили из эксперимента на 3, 7 и 14 сутки передозировкой диэтилового эфира.

Образцы ткани печени погружали в 10% нейтральный формалин на 24 часа при комнатной температуре. Подготовку образцов для гистологического исследования осуществляли с использованием автоматического процессора Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин [11]. Со срезов толщиной 3-4 мкм удаляли парафин, для этого стекла помещались последовательно в ксилол, в 100% спирт и в растворы с постепенным снижением концентрации спирта до полностью водного раствора [12]. Срезы печени окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Leica DM 2500, анализ изображений выполняли в программе Leica Application Suite (V4).

Морфометрические исследования печени включали: определение индекса альтерации %, митотического индекса %, количества двуядер-

ных гепатоцитов в 1 мм² среза. Подсчет количества СК осуществляли в единице площади в 20-ти полях зрения при увеличении микроскопа х400. Данный показатель позволяет охарактеризовать вклад СК в регенерацию печени при токсическом повреждении.

Тучные клетки выявляли при окраске препаратов толуидиновым синим, подсчитывали их количество в единице площади в 20-ти полях зрения при увеличении х1000. Для оценки функциональной активности тучных клеток измеряли интенсивность окрашивания толуидиновым синим сульфатированных гликозаминогликанов в составе секреторных гранул цитоплазмы с помощью программы Leica Application Suite (V4), показатель выражали в единицах оптической плотности.

Иммуногистохимическое исследование печени выполняли в соответствии со стандартным протоколом, используя Autostainer DAKO для фиксированных формалином, залитых парафином срезов. Демаскирование антигенов проводили высокотемпературной обработкой в цитратном буфере (рН 6) с использованием Pascal DAKO [11]. Для ИГХ исследования печени применяли моноклональные антитела purified mouse antihuman Ki-67, mouse antirat CD3 clone G 4.18, CD45 clone OX-1, которые в разведении 1:30 инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре, а затем вторичные антитела biotin goat antimouse в разведении 1:50. Антигенреактивные клетки выявляли при помощи тест-системы Novolink™ Polymer Detection System (Novocastra Lab., Ltd), контрастируя их хромогенным субстратом (3,3-диаминобензидин в буферном растворе). DAB-позитивные клетки идентифицировали по коричневому гранулярному окрашиванию цитоплазмы клеток. Количественную оценку Ki-67⁺ гепатоцитов, CD45⁺, CD3⁺ производили в единице площади в 20 полях зрения при увеличении микроскопа х1000 в пересчете на 1 мм² среза.

Для выявления коллагена в ткани печени проводили окрашивание гистологических срезов пикросириусом красным. С использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM 710 (ZEISS) получали изображения в формате jpg [13]. Далее с помощью программы ImageJ проводили подсчет площади коллагена и выражали в процентах от общей площади ткани.

Статистическая обработка результатов эксперимента выполнена с применением Statistica 10.0. Для сравнения двух независимых групп использован непараметрический критерий Манна-Уитни. При проверке статистических гипотез использовался уровень значимости 5% ($P < 0.05$).

Результаты и обсуждение. В связи с тем, что в ходе морфометрического исследования тка-

ней печени различий между группой интактных и контрольных животных не было установлено, в дальнейшем представлены результаты только интактной группы.

Результаты морфометрического анализа показали, что на 3 сутки после воздействия токсиканта резко возрастает индекс альтерации, отмечается существенное увеличение количества двуядерных гепатоцитов, Ki-67⁺ клеток, митотического индекса и СК (рис. 1, 2).

В ранние сроки токсического воздействия CCl₄ ответная реакция организма выражается в виде усиления клеточной (увеличение количества двуядерных гепатоцитов) и внутриклеточной регенерации (увеличение митотического индекса и Ki-67⁺ гепатоцитов), которая направлена на повышение метаболической активности и увеличение количества гепатоцитов. На 7 и 14 сутки после введения CCl₄ на фоне высокого индекса альтерации, возрастает количество двуядерных гепатоцитов в ткани печени, но при этом уменьшается количество Ki-67⁺ гепатоцитов и в 15-18 раз снижается митотический индекс, количество СК уменьшается не только относительно группы CCl₄ 3 сутки, но и по сравнению с интактной (рис. 1, 2).

В воспалительном процессе при токсическом повреждении печени принимают участие, в том числе, и клеточные элементы соединительной ткани к числу которых относятся тучные клетки. На фоне действия токсиканта во все сроки эксперимента в разы увеличивается количество ТК в печени. При этом содержание в них секреторных гранул значительно ниже, чем у интактных животных, что свидетельствует об активной дегрануляции ТК (рис. 2).

Увеличение количества тучных клеток может быть обусловлено их миграцией в место повреждения. Пополнение популяции тучных клеток за счет мигрирующих происходит в регенерирующей печени, чтобы компенсировать возможную потерю резидентных печеночных тучных клеток. Резкое снижение содержания секреторных гранул в ТК может свидетельствовать об усиленной дегрануляции, характеризующейся высвобождением медиаторов, которые повышают проницаемость сосудов, усиливают ангиогенез и участвуют в воспалении [14, 15].

При оценке степени фиброза в ткани печени на фоне токсического воздействия CCl₄ на 3 и 7 сутки отмечается незначительное увеличение средней площади, занимаемой коллагеном (рис. 3). На 14 сутки площадь коллагена возрастает в 5 раз по сравнению с показателями интактных животных.

В ходе ИГХ исследования установлено, что токсическое действие CCl₄ приводит к резкому увеличению лейкоцитов CD45⁺ и Т-лимфоцитов

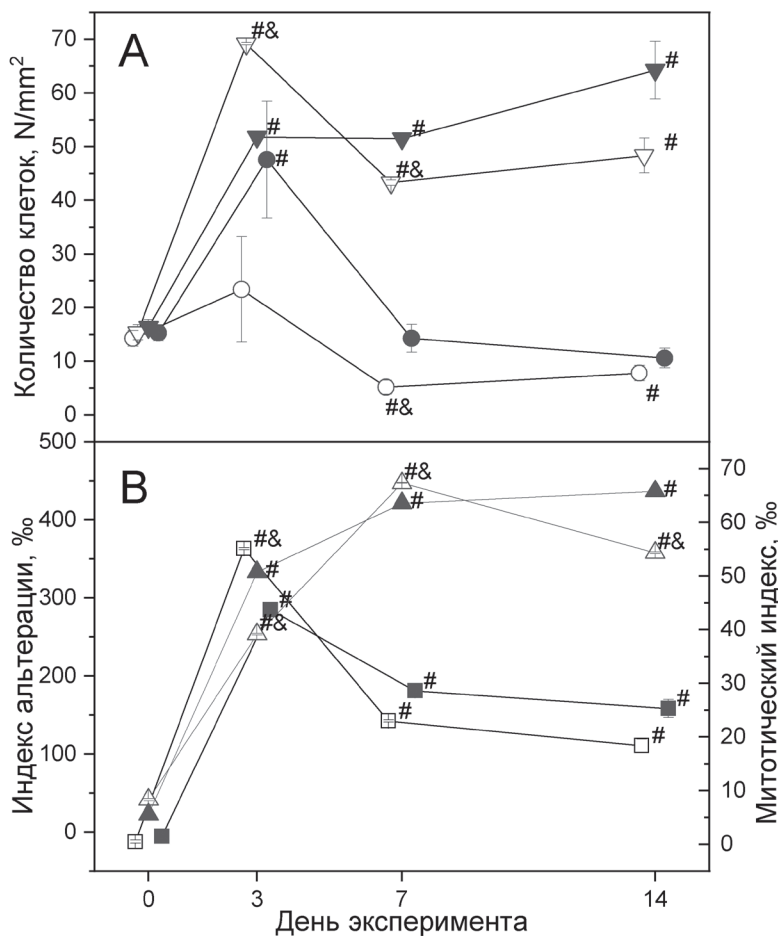


Рис. 1. Показатели регенерации печени крыс в динамике диффузного токсического повреждения печени CCl_4 (черные символы) и при его коррекции АФГ (белые символы). Примечание: (● ○) – Ki-67+ клетки (N/mm²), (▼ ▽) – двуядерные гепатоциты (N/mm²), (■ □) – митотический индекс (%), (★ ☆) – индекс альтерации (%); результаты статистически значимы ($p < 0,05$) по сравнению с интактной группой (#) и токсическим воздействием CCl_4 (+).

$CD3^+$ в ткани печени, как в паренхиме органа, так и периваскулярно. Усиление лимфо-лейкоцитарной инфильтрации паренхимы печени и периваскулярных областей при интоксикации CCl_4 свидетельствует об активном ответе клеточного звена иммунитета на действие токсиканта и позволяет судить об интенсивности воспалительного процесса в поврежденном органе. К 7 и 14 суткам уменьшается количество $CD45^+$ и $CD3^+$ клеток (рис. 2).

Применение АФГ на 3 и 14 сутки приводит к снижению индекса альтерации относительно соответствующих групп без лечения, но при этом данный показатель значительно выше, чем у интактных животных (рис. 1). Также на 3 сутки отмечается увеличение количества двуядерных гепатоцитов, СК (рис. 1, 2) и возрастает митотический индекс. На 7 и 14 сутки, напротив, умень-

шается число Ki-67+ и двуядерных гепатоцитов, снижается митотический индекс (рис. 1), но при этом количество СК остается выше, чем в группах соответствующего срока без лечения. Увеличение количества СК печени, может быть одним из центральных событий, приводящих к частичной регенерации печени после ее токсического повреждения. Результаты проведенного нами исследования подтверждают тот факт, что в ранние сроки токсического воздействия в ткани печени, особенно при введении АФГ возрастает количество синусоидальных клеток, в том числе за счет притока моноцитов крови или за счет зрелых макрофагов перитонеальной полости, поступающих через мезотелий непосредственно к месту повреждения [16].

На фоне применения АФГ на 3 и 14 сутки отмечается уменьшение площади коллагена в печени по сравнению с группами животных, получавших только CCl_4 .

Введение АФГ при воздействии CCl_4 на организм, на поздних сроках эксперимента, приводит к уменьшению количества тучных клеток в ткани печени, задерживает их дегрануляцию, тем самым препятствует высвобождению медиаторов воспаления [14]. АФГ способствует уменьшению выраженности воспалительной реакции в ответ на действие гепатотропного яда, что подтверждается снижением количества $CD45^+$ и $CD3^+$ клеток на 7 и 14 сутки исследования (рис. 2).

Заключение. Модель токсического гепатита, индуцированная CCl_4 широко известна, но несмотря на это именно экспериментальные модели позволяют дать комплексную оценку и разработать методы адекватной коррекции нарушений печени, что не всегда возможно в клинической практике. Результаты проведенного исследования показали, что иммуномодулирующее действие АФГ проявляется в снижении лейкоцитарной инфильтрации, происходит резкое уменьшение уровня $CD45^+$ до значений интактных животных на 7, 14 сутки эксперимента. Снижается также и количество $CD3^+$ лимфоцитов, тучных клеток и площади, занимаемой коллагеном. Введение АФГ способствует снижению $CD45^+$, $CD3^+$, но при этом количество синусоидальных клеток возрастает. На основании этого можно предполо-

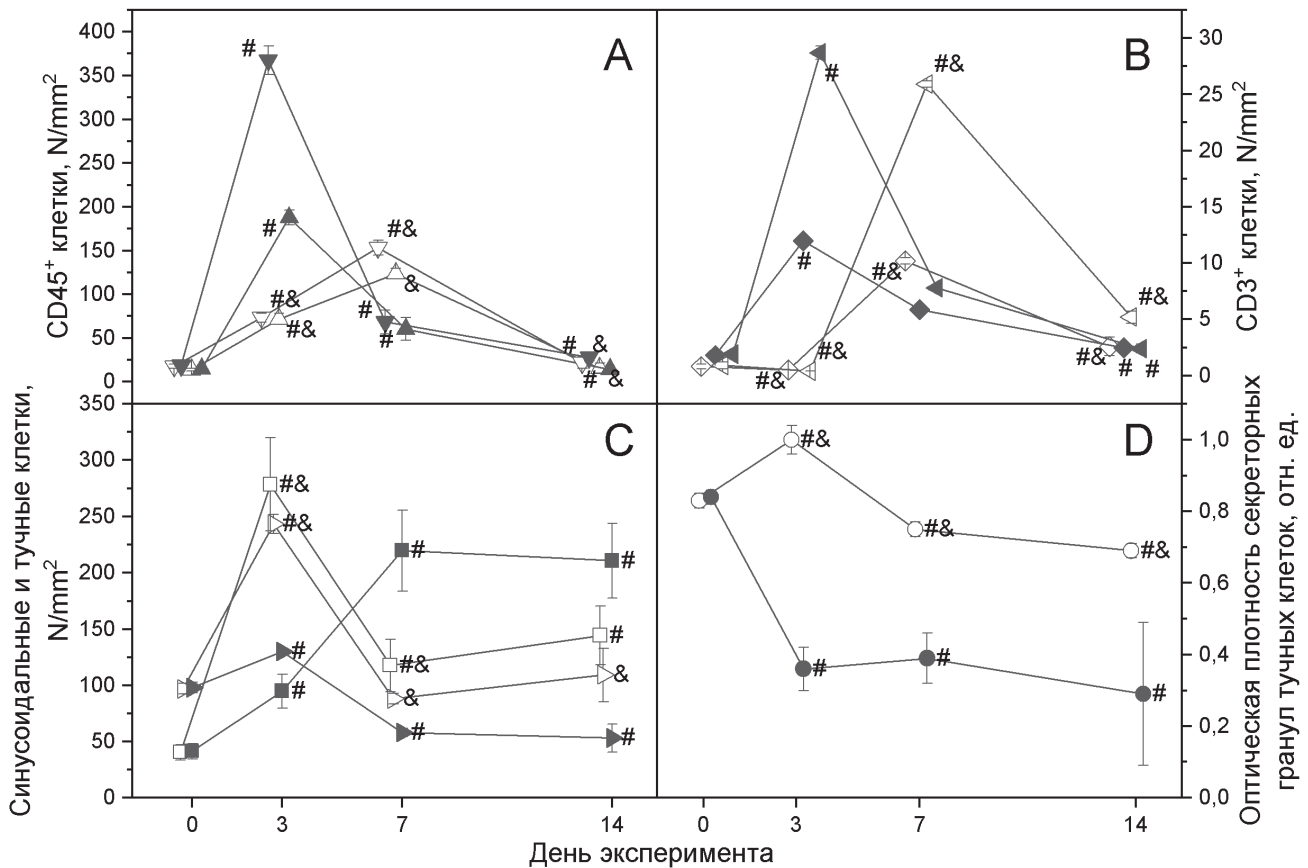


Рис. 2. Клетки стромы печени экспериментальных животных в динамике диффузного токсического повреждения печени CCl_4 (черные символы) и при его коррекции АФГ (белые символы). Примечание: (▲ △) - CD45+ клетки в паренхиме печени (N/mm^2), (▼ ▽) - CD45+ клетки, расположенные периваскулярно (N/mm^2), (◆ ◇) - CD3+ клетки в паренхиме печени (N/mm^2), (◀ ◁) - CD3+ клетки, расположенные периваскулярно (N/mm^2), (■ □) - тучные клетки (N/mm^2), (★ ☆) - синусоидальные клетки (N/mm^2), (● ○) - оптическая плотность секреторных гранул в тучных клетках (отн. ед.); результаты статистически значимы ($p < 0,05$) по сравнению с интактной группой (#) и токсическим воздействием CCl_4 (+).

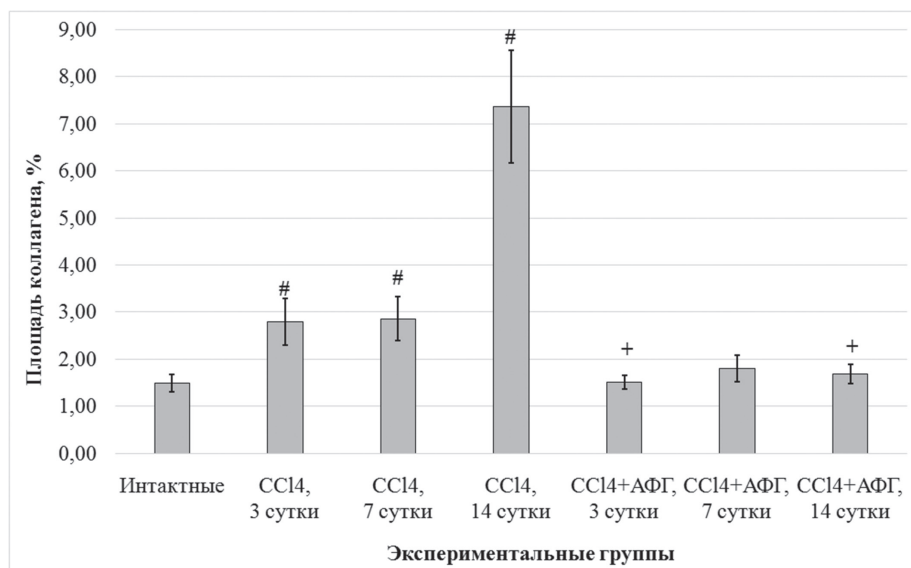


Рис. 3. Изменение площади коллагена в ткани печени при токсическом повреждении и его коррекции. Примечание: результаты статистически значимы ($p < 0,05$) по сравнению с интактной группой (#) и токсическим воздействием CCl_4 (+).

жить, что применения АФГ позволяет регулировать количество и функциональную активность клеток стромы, снижать воспалительную реакцию и обеспечивать восстановление ткани печени после токсического повреждения.

Исследование проведено в рамках бюджетной программы «Изучение механизмов реге-

нераторных процессов в органах и тканях с использованием экспериментальных моделей экстремальных факторов и токсического воздействия на организм», № Гос. регистрации – АААА-А18-118020590107-0. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИИФ УрО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Junnila M., Rahko T., Sukura A., Lindberg L. A. Reduction of carbon tetrachloride-induced hepatotoxic effects by oral administration of betaine in male Han-wistar rats: a morphometric histological study. *Vet Pathol.* 2000; 37: 231-238.
2. Karakus E., Karadeniz A., Simsek N., Can I., Kara A., Yildirim S. et al. Protective effect of Panax ginseng against serum biochemical changes and apoptosis in liver of rats treated with carbon tetrachloride (CCl₄). *J Hazard Mater.* 2011; 195: 208-213.
3. Stoyanovsky D., Cederbaum A.I. Metabolism of carbon tetrachloride to trichloromethyl radical: an ESR and HPLC-EC study. *Chem Res Toxicol.* 1999; 12: 730-736.
4. Юшков Б. Г., Черешнев В. А., Климин В. Г., Арташян О. С. Тучные клетки: физиология и патофизиология. Москва: Медицина; 2011
5. Antoniadis C.G., Quaglia A., Taams L.S., Mity R.R., Hussain M., Abeles R. et al. Source and characterization of hepatic macrophages in acetaminophen-induced acute liver failure in humans. *Hepatology.* 2012; 56: 735-746.
6. Ramadori G, Saile B. Portal tract fibrogenesis in the liver. *Lab Invest.* 2004; 84: 153-159
7. Woolbright B.L., Jaeschke H. Mechanisms of Inflammatory Liver Injury and Drug-Induced Hepatotoxicity *Curr Pharmacol Rep.* 2018; 4(5): 346-357.
8. Tacke F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. *J Hepatol.* 2017; 66(6): 1300-1312.
9. Triantafyllou E., Woollard K. J., McPhail M.J. W., Antoniadis C. G., Possamai L. A. The Role of Monocytes and Macrophages in Acute and Acute-on-Chronic Liver Failure. *Front Immunol.* 2018; 9: 2948.
10. Abidov A. M., Danilova I. G. Method for obtaining 5-amino 2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione alkali metal salts and their use in medicine. Patent US, US009101629B2; 2015.
11. Kumar G. L., Rudbeck L. Education guide. Immunohistochemical (IHC) staining methods. 2009. Dako North America, Carpinteria, California. 160 p.
12. Yakovleva G. E. The Enzymes in Clinical Biochemistry, Bector-Best, Novosibirsk. 2005.
13. Vogel B., Siebert H., Hofmann U., Frantz S. Determination of collagen content within picrosirius red stained paraffin-embedded tissue sections using fluorescence microscopy. *MethodsX.* 2015; 2: 124-134.
14. Francis H., Meiningner C. J. A review of mast cells and liver disease: What have we learned? *Digestive and Liver Disease.* 2010; 42: 529-536.
15. Zweifel M., Breu K., Matozan K., Renner E., Welle M., Schaffner T. et al. Restoration of hepatic mast cells and expression of a different mast cell protease phenotype in regenerating rat liver after 70%-hepatectomy. *Immunol Cell Biol.* 2005; 83: 587-95.
16. Rehermann B. Mature peritoneal macrophages take an avascular route into the injured liver and promote tissue repair. *Hepatology.* 2017; 65(1): 376-379.

REFERENCES:

1. Junnila M., Rahko T., Sukura A., Lindberg L. A. Reduction of carbon tetrachloride-induced hepatotoxic effects by oral administration of betaine in male Han-wistar rats: a morphometric histological study. *Vet Pathol.* 2000; 37: 231-238.
2. Karakus E., Karadeniz A., Simsek N., Can I., Kara A., Yildirim S. et al. Protective effect of Panax ginseng against serum biochemical changes and apoptosis in liver of rats treated with carbon tetrachloride (CCl₄). *J Hazard Mater.* 2011; 195: 208-213.
3. Stoyanovsky D., Cederbaum A.I. Metabolism of carbon tetrachloride to trichloromethyl radical: an ESR and HPLC-EC study. *Chem Res Toxicol.* 1999; 12: 730-736.
4. Yushkov B. G., Chereshev V. A., Klimin V. G., Artashyan O. S. Mast cells: physiology and pathophysiology. Moscow: The medicine; 2011(in Russian).
5. Antoniadis C.G., Quaglia A., Taams L.S., Mity R.R., Hussain M., Abeles R., et al. Source and characterization of hepatic macrophages in acetaminophen-induced acute liver failure in humans. *Hepatology.* 2012; 56: 735-746.
6. Ramadori G, Saile B. Portal tract fibrogenesis in the liver. *Lab Invest.* 2004; 84: 153-159
7. Woolbright B.L., Jaeschke H. Mechanisms of Inflammatory Liver Injury and Drug-Induced Hepatotoxicity *Curr Pharmacol Rep.* 2018; 4(5): 346-357.
8. Tacke F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. *J Hepatol.* 2017; 66(6): 1300-1312.
9. Triantafyllou E., Woollard K. J., McPhail M.J. W., Antoniadis C. G., Possamai L. A. The Role of Monocytes and Macrophages in Acute and Acute-on-Chronic Liver Failure. *Front Immunol.* 2018; 9: 2948.
10. Abidov A. M., Danilova I. G. Method for obtaining 5-amino 2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione alkali metal salts and their use in medicine. Patent US, US009101629B2; 2015.
11. Kumar G. L., Rudbeck L. Education guide. Immunohistochemical (IHC) staining methods. 2009. Dako North America, Carpinteria, California. 160 p.
12. Yakovleva G. E. The Enzymes in Clinical Biochemistry, Bector-Best, Novosibirsk. 2005.
13. Vogel B., Siebert H., Hofmann U., Frantz S. Determination of collagen content within picrosirius red stained paraffin-embedded tissue sections using fluorescence microscopy. *MethodsX.* 2015; 2: 124-134.
14. Francis H., Meiningner C. J. A review of mast cells and liver disease: What have we learned? *Digestive and Liver Disease.* 2010; 42: 529-536.
15. Zweifel M., Breu K., Matozan K., Renner E., Welle M., Schaffner T. et al. Restoration of hepatic mast cells and expression of a different mast cell protease phenotype in regenerating rat liver after 70%-hepatectomy. *Immunol Cell Biol.* 2005; 83: 587-95.
16. Rehermann B. Mature peritoneal macrophages take an avascular route into the injured liver and promote tissue repair. *Hepatology.* 2017; 65(1): 376-379.

Z.A. Shafigullina^{1,2}, I.G. Danilova^{1,2}, I.F. Gette^{1,2}, V.G. Sencov³, M.T. Abidov¹

IMMUNOMODULATING EFFECT OF AMINOPHTHALHYDRAZIDE ON LIVER CELLS WITH DIFFUSE TOXIC DAMAGE

¹Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, Institute of Natural Sciences and Mathematics, 620002, Ekaterinburg, Russian Federation

²Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of Russian Academy of Science, 620049, Yekaterinburg, Russian Federation

³Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 620014, Ekaterinburg, Russian Federation

A comprehensive assessment of the role of stromal cells in regenerative processes has been carried out on the model of diffuse toxic liver damage with carbon tetrachloride (CCl₄) and its correction with aminophthalhydrazide. It has been found that the immunomodulating effect of aminophthalhydrazide is manifested in a decrease in leukocyte infiltration, there is a sharp decrease in the level of CD45⁺ to the values of intact animals on the 7th and 14th days of the experiment. The number of CD3⁺ lymphocytes, mast cells and the area occupied by collagen are also reduced. Since the introduction of aminophthalhydrazide reduces the number of CD45⁺, CD3⁺ lymphocytes, but the number of sinusoidal cells increases compared to group of animals treated only with CCl₄, it can be assumed that the decrease in the toxic effect of CCl₄ is associated with the change in the number and functional activity of sinusoidal cells, which is aimed at removing the inflammatory response and restoring hepatic tissue after toxic damage.

Keywords: carbon tetrachloride, liver, lymphocytes, sinusoidal cells, mast cells, collagen.

Материал поступил в редакцию 14.06.2019 г.

ЛУЧШАЯ РАБОТА В ОБЛАСТИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

УДК 615.099:577.121:661.852.712

ОСОБЕННОСТИ ЭЛИМИНАЦИИ СВИНЦА У КРЫС ПРИ ЕГО ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ*М.Е. Шемаев, А.М. Малов,
В.К. Сибиряков, Р.К. Глушков**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России), 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

Представлены данные по элиминации свинца из организма крыс с мочой и калом при парентеральном введении токсиканта. Использовано трехкратное введение ацетата свинца в суточных дозах (по свинцу) – 15 мг/кг, 45 мг/кг и 60 мг/кг. Содержание свинца определяли методами инверсионной вольтамперометрии и атомно-эмиссионной спектроскопии. Элиминация свинца зависит от дозы свинца и может быть описана полиномом 2-го порядка.

На 20-й день эксперимента элиминированными, в зависимости от дозы, оказываются от 6 % до 10 % от массы введенного в организм крысы свинца. Соотношение между ренальным и интестинальным путями выведения токсиканта зависит от дозы затравки свинцом. Рассчитаны периоды полувыведения свинца из организма крысы: для дозы 15 мг/кг оно оказалось равным 61,9 суток, для дозы 45 мг/кг – 69,5 суток, для дозы 60 мг/кг – 70,8 суток. Представленная модель может быть использована для оценки эффекта применения терапевтических средств при отравлениях свинцом.

Ключевые слова: свинец, крысы, элиминация, моча, кал.

Введение. Свинец как один из приоритетных неорганических экотоксикантов является объектом внимания исследователей в области токсикологии, медицины, биотехнологии [1,2]. Этот самый тоннажный неорганический экотоксикант широко применяется в различных сферах человеческой деятельности, что приводит к его значительному накоплению в окружающей среде и, как следствие, к негативному воздействию на биоту и организм человека, в частности. Острые отравления свинцом чаще всего отмечаются у профессионально занятых граждан, имеющих непосредственный контакт с токсикантом на производстве. Причина отравления обусловлена попаданием ксенобиотика в организм через пищу и воду или с атмосферным воздухом в виде пыли. Важность исследования механизмов токсического действия свинца подтверждает внесение в Международную классификацию болезней (МКБ-10) токсического воздействия свинца на человека и выделение для этого отдельной нозологической формы – «Т56.0. Токсическое действие свинца и его соединений» [3].

Разработка методов выведения данного токсиканта из организма, схем лечения и применения

соответствующих терапевтических средств при отравлении свинцом предполагает их испытание на биологических моделях. Рассматривают два основных пути элиминации свинца из организма: ренальный (с мочой), интестинальный (с калом). Считается, что до 80 % свинца выводится из организма с мочой [4], но при энтеральном поступлении свинца его большая часть будет выведена с калом [5]. Информация о кинетике выведения токсиканта необходима для применения той или иной схемы лечения, связанной с поражением почек [6,7]. На долю других путей выведения свинца (потовые железы, слюна, волосы, ногти и т.д.) приходится менее 6 – 7 % [8].

Информация о кинетике элиминации свинца из организма, модели для изучения этого процесса являются востребованными как научными исследованиями, так и медицинской практикой. Предполагается, что механизм элиминации свинца у млекопитающих имеет схожие черты, т.е. с определенными ограничениями результаты исследования элиминации этого металла у животных могут быть перенесены на человека.

Целью настоящего исследования стало изучение закономерностей элиминации свинца из орга-

Шемаев Михаил Евгеньевич (Shemaev Mikhail Evgen'evich), сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, shemaevm@mail.ru

Малов Александр Михайлович (Malov Aleksandr Mihajlovich), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, malexmish@rambler.ru

Сибиряков Виктор Константинович (Sibirjakov Viktor Konstantinovich), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России

Глушков Рудольф Константинович (Glushkov Rudolf'f Konstantinovich), кандидат химических наук, химик-эксперт ФГБУН ИТ ФМБА России

низма лабораторных крыс с мочой и калом при его парентеральном введении.

Материалы и методы исследования. В качестве модельного объекта в эксперименте были использованы белые аутбредные крысы линии Vistar (половозрелые самцы). Животные были разделены на следующие группы: 3 опытных по 8 крыс и контрольная группа – 6 крыс. Масса животных в течение эксперимента увеличивалась, для расчетов ее принимали равной 250 г.

Крысы получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» и содержались в условиях вивария. Исследования на животных соответствовали принципам гуманности, изложенных в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза (2010/63/EU) [9]. Крысам давали комбикормом рецепта ПХ-120 сх-333 (ГОСТ 502238-92).

Опытным группам в течение 3-х дней парентерально (внутримышечно) вводили раствор ацетата свинца $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ в физиологическом растворе для теплокровных (раствор Рингер-Локка), подкисленного уксусной кислотой до pH 5,0 во избежание инфильтрации тканей животного при инъекциях. Были использованы три суточные дозы по свинцу – 15 мг/кг, 45 мг/кг и 60 мг/кг. Контрольной группе животных внутримышечно вводили физиологический раствор Рингер-Локка. Объемы растворов вводили из расчета 0,1 см³ на 100 г массы крыс. Для получения биоматериала (моча и кал) животных парами высаживали на 1, 6, 8, 13, 15 и 20-й дни эксперимента в обменные клетки, при этом получали по 4 пробы мочи и кала в день высадки для каждой группы (дозы) животных. Эти пробы подвергали анализу на содержание свинца. В интервалах между суточными сборами биоматериала лабораторные крысы находились в стационарных условиях вивария, животным давали корм и воду. При высадке животных в обменные клетки в пары подбирали одних и тех же крыс.

Таким образом, экспериментально моделировали процесс острого отравления свинцом. Исследование длилось 20 суток. По окончании эксперимента у каждой особи контрольной и опытной группы с дозой свинца 45 мг/кг для анализа были взяты цельные органы – почки и печень.

Полученные биоматериалы подвергали анализу на содержание свинца методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторе АВА-3, а также методом атомно-эмиссионной спектроскопии на анализаторе Optima 7000 DV ICP-OES, при этом использовали серии стандартных образцов для эффективного контроля качества и адекватности анализов (ГСО 6077-91).

В результате проведенных анализов получали значения концентрации свинца в моче, кале, тканях печени и почек (мкг/дм³ или мкг/кг). На основании данных об объемах выделенной мочи и массах печени, почек и кала были рассчитаны массы свинца в этих биосредах (мкг).

Результаты исследования обработаны стандартным пакетом прикладных программ Microsoft Office 2007 ОС Windows 7. Данные представлены средними арифметическими значениями с ошибкой среднего. Различия, в силу незначительного количества животных в группах, оценивались по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни. и принимались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты анализов показали, что при дозе 15 мг/кг на протяжении всего эксперимента выделение свинца с калом преобладало на массой выводимого свинца с мочой, в конце эксперимента это превышение было почти вдвое. Для двух других доз (45 мг/кг и 60 мг/кг) массы выводимого свинца с калом и мочой практически равны (табл.1). Причиной могут быть изменения механизмов выведения свинца в зависимости от дозы, из чего следует необходимость измерения содержания свинца и в моче, и в кале пациента, а не только в моче, как основного диа-

Таблица 1

Средние значения массы элиминированного свинца в кале и моче крыс (мкг) и их соотношение на 20-е сутки наблюдений

Биоматериал	Группы животных по дозам свинца			
	Контроль	15 мг/кг	45 мг/кг	60 мг/кг
Моча	6,3±0,945 [#] (n=4)	378±56,7 ^{**} (n=4)	1090±164 [#] (n=4)	1601±240 [#] (n=4)
Кал	53,5±8,025 [#] (n=4)	740±111 ^{**} (n=4)	1093±164 [#] (n=4)	1571±236 [#] (n=4)
Кал/моча	8,49	1,96	1,00	0,98

Примечания

1 * – различия по массе свинца в моче и кале статистически значимы при $P < 0,05$.

2 # – различия между экспериментальными группами и контрольной группой по соответствующему биоматериалу статистически значимы при $P < 0,05$.

гностического признака при подозрении на свинцовое отравление.

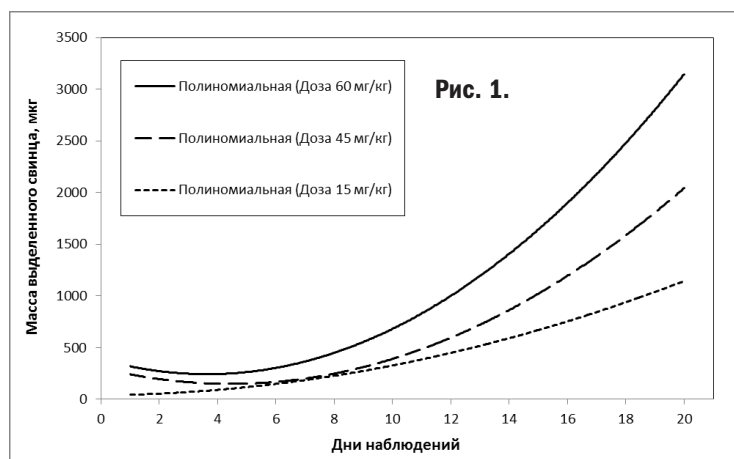
В таблице 2 представлены данные по содержанию свинца в почках и печени крыс. Несмотря на имеющиеся в литературе сообщения о тропности именно печени и почек к свинцу, данные таблицы 2 показывают, что доля аккумулированного свинца в этих органах к концу третьей недели относительно невелика.

Свинец в большем количестве локализуется в почках по сравнению с печенью, при этом по отношению к контролю содержание свинца в почках увеличивается в 127 раз, а в печени только в 63 раза.

Периодическое высаживание животных на сутки в обменные клетки, сбор кала и мочи позволили отследить кумулятивную динамику элиминации свинца ренальным и интестинальным механизмами выведения токсиканта. Суточные измерения концентрации свинца в этих биоматериалах позволили рассчитать массу выводимого свинца в абсолютных значениях и в долях (процентах) от введенного количества токсиканта. На основании этих данных стало возможным определить кинетические характеристики выведения свинца из организма крыс.

Графически динамика элиминации свинца из организма крыс с мочой и калом при трех дозах введения токсиканта представлена на рисунке 1.

Полученные графические зависимости хорошо описываются квадратичными полиномами ($R^2 \geq 0,98$). Для дозы 15 мг/кг – $Y = 2,63 \cdot x^2 + 2,59 \cdot x + 38,6$; для дозы 45 мг/кг – $Y = 7,82 \cdot x^2 - 69,5 \cdot x + 303,4$ и для дозы 60 мг/кг – $Y = 10,8 \cdot x^2 - 78,9 \cdot x + 386,4$. В этих уравнениях Y – масса выделенного свинца (мкг) на x – день от начала эксперимента. Это позволило вычислить часто применяемый при такого рода исследованиях параметр как время полувыведения токсиканта – $T_{1/2}$. Для дозы 15 мг/кг оказалось равным 61,9 суток, для дозы 45 мг/кг – 69,5 суток, для дозы 60 мг/кг – 70,8 суток. Несмотря на качественную связь дозы и $T_{1/2}$, прямой зависимости между ними не отмечено. Трехкратное увеличение дозы с 15 мг/кг до 45 мг/кг лишь на 13 % увеличивает время полувыведения свинца. Полученные значения $T_{1/2}$ близки по величине к представленным в литературе, хотя нужно отдавать отчет в том, что величина этого параметра зависит как от способа введения свинца, так от введенной дозы и метода определения



показателя [10]. Использование этих уравнений предсказывает, что полное выведение свинца, например, при дозе 15 мг/кг может произойти лишь на 88-е сутки.

Расчеты показывают, что на конец эксперимента (20-й день) у животных с дозой свинца 15 мг/кг выведено 9,93 %, 45 мг/кг – 6,47 % и 60 мг/кг – 7,06 % от введенной массы токсиканта.

Критически оценивая возможности предложенной модели выведения свинца, следует помнить о многофакторности процесса выведения свинца, его кумулятивных свойствах и компартментализации в организме [11]. Известно, что свинец может находиться в организме в трех формах и соответственно трех компартментах: лабильной – плазма крови, обмениваемой – эритроциты и мягкие ткани и стабильной – костная ткань [4]. Эти формы с кинетической точки зрения отличаются временем полувыведения токсиканта – 25 суток, 40 суток и 25 лет, соответственно [10].

Динамические процессы обмена свинца между компартментами, зависимость этих процессов от введенной дозы и сроков наблюдения усложняют понимание процесса элиминации свинца, представляющего собой непростой многофакторный процесс, который лишь в первом приближении, по-видимому, с определенными ограничениями может быть охарактеризован временем полувыведения. По-видимому, именно этой сложностью компартментализации можно объяснить значительный разброс в величине полувыведения свинца из организма представленный в литературных источниках – от 20-ти дней до 20-ти лет [12]. Вы-

Таблица 2

Средняя масса свинца (мкг) в почках и печени контрольных и опытных крыс (доза токсиканта 45 мг/кг) на 20 сутки эксперимента

Группы животных	Почки	Печень
Контрольная (6 крыс)	0,294±0,044* (n=6)	0,227±0,034* (n=6)
Опытная (8 крыс)	37,3±5,59* (n=8)	14,31±2,15* (n=8)

Примечание: 1* – различия между контрольной и опытной группами статистически значимы при $P < 0,05$

ведение значительного (при больших дозах) количества свинца, введенного в организм за короткий период будет сильно отличаться по этому показателю от процесса элиминации того же количества свинца, поступившего в организм за длительный период из источников с относительно низкой концентрацией этого токсиканта. Если в первом случае будут задействованы лабильный и обмениваемый компартменты, то во втором – обмениваемый и стабильный. Очевидно, что и время полувыведения будет соответственно в первом случае гораздо короче, чем во втором.

Несмотря на это, предложенная модель, ее аналитическое выражение определено и достаточно полно характеризуют состояние элиминации свинца в условиях конкретного эксперимента, т.е.

при парентеральном введении указанных доз свинца в виде ацетата. Модель интегрально описывает избавление организма от токсиканта, позволяет предсказать долю оставшегося свинца на тот или иной период времени, что может оказаться важным при терапии свинцовых отравлений и испытании соответствующих терапевтических средств, например, разного рода энтеросорбентов.

Представленные материалы позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Соотношение между ренальным и кишечным путями выведения свинца зависит от дозы затравки свинцом.

2. Представленная кинетическая модель выведения свинца из организма крысы может быть достаточно точно описана полиномом 2-го порядка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Новикова М.А. Влияние хронической свинцовой интоксикации на организм человека. Сибирский мед. журн. 2013; 2: С. 6-
2. Луковникова Л.В., Фролова А.Д., Чекунова М.П. Металлы в окружающей среде, проблемы мониторинга. Эфферентная терапия. 2004; Т. 10: 74-9.
3. Токсическое действие металлов (Т 56.0). МКБ-10: Международный классификатор болезней 10-го пересмотра. Available at: <http://mkb-10.com/index.php?pid=19213>.
4. Павловская Н. А., Кирьяков А. В.,

- Погабало А. В., Кирьяков А. В., Погабало А. В. Поведение свинца в организме человека и особенности ранней диагностики свинцовых интоксикаций. Моск. науч.-исслед. ин-т гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана, Рос. гос. мед. ун-т. М.: Лад; 19
5. Гнелицкий Г.И., Кауров Я.В., Лавровский С.Н., Артеменко А.Г., Андриухин В.И., Бородачев А.С. К проблеме выведения из организма человека тяжелых металлов. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI Веке». 2011; 9 (Т. 13).
 6. Skerfving S., Bergdahl I. Lead. Handbook

- on the Toxicology of Metals. N.Y. Academic Press (Nordberg G.F, Fowler B.P., Nordberg M.-Eds). 2007; 610 -
7. Sabolić I. Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals. Nephron Physiol. 2006; 104(3):107-14.
 8. Измеров Н.Ф. Свинец и здоровье. Гигиенический и медико-биологический мониторинг. Москва; 20
 9. Красильщикова М.С., Белозерцева И.В. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Rus-LASA: Объединение

специалистов по работе с животными, СПб; 20 Available at: http://ruslasa.ru/wp-content/uploads/Dir_2010_63_Rus-LASA.pdf.

10. Измеров Н.Ф. Российская энциклопедия по медицине труда. М.: Медицина; 20
11. Филов В.А., Ивин Б.А., Мусийчук Ю.И., Москвина А.В. Вредные вещества в окружающей среде. Справ.-энц. изд. СПб.: НПО «Профессионал»; 2005.
12. Hernberg S. Lead. Occupational Medicine Yearbook. Pt The Chemical Occupational Environment, Chicago, 1975; 715-69.

REFERENCES:

1. Novikova M.A. Influence of chronic lead intoxication on the human body. Siberian med. journal. 2013, 2, Pp. 6-13 (in Russian).
2. Lukovnikova L.V., Frolova A.D., Chekunova M.P. Metals in the environment, monitoring problems. Efferent therapy. 2004, Vol. 10, Pp. 74-9 (in Russian).
3. Toxic effect of metals (T 56.0). ICD-10: International classification of diseases of the 10th revision. Available at: <http://mkb-10.com/index.php?pid=19213> Hm.
4. Pavlovskaya N.A., Kirjakov A.V., Pogabalo A.V. Behavior of lead in the human body and features of early diagnosis of lead intoxication.

- F.F. Erisman Federal Research Center of Hygiene. Russian State Medical University: Lад; 1998 (in Russian).
5. Gneltitsky G.I., Kaurou Ya.V., Lavrovsky S.N., Artemenko A.G., Andriukhin V.I., Borodachev A.S. On the problem of excretion of heavy metals from the human body. Electronic collection of scientific papers «Health and education in the XXI Century». 2011, 9, Vol. 13 (in Russian).
 6. Skerfving S., Bergdahl I. Lead. Handbook on the toxicology of metals. N. Yu. academic printing house (Nordberg G. F., Fowler B. P., Nordberg, M., EDS). 2007, Pp. 610-

7. Sabolić I. Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals. Nephron Physiol. 2006, 104, 3, Pp. 107-14.
8. Izmerov N.F. Lead and health. The hygienic medical-biological and monitoring. Moscow, 20
9. Krasilschikova M.S., Belozertseva I.V. EC 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union for the protection of animals used for scientific purposes. Rus-Lasa: Association of specialists working with animals, St. Petersburg, 20 Available at: http://ruslasa.ru/wp-content/uploads/Dir_2010_63_Rus-LASA.pdf Hm (in

- Russian).
10. Izmerov N.F. Russian encyclopedia of occupational medicine. M., Medicine, 2005 (in Russian).
 11. Filov V.A., Ivin B.A., Musiychuk Yu.I., Moskvina A.V. Harmful substances in the environment. SPb., Professional, 2005 (in Russian).
 12. Hernberg S. Lead. Occupational Medicine Yearbook. Pt The Chemical Occupational Environment, Chicago, 1975, Pp. 715-69.

M.E. Shemaev, A.M. Malov, V.K. Sibiryakov, R.K. Glushkov

FEATURES OF LEAD ELIMINATION IN RATS FOR ITS PARENTERAL ADMINISTRATION

Institute of Toxicology of the Federal Medical-Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

The data on lead elimination from the body of rats with urine and feces for parenteral administration of the toxicant are presented. Three times introduction of lead acetate in daily doses (lead) of 15 mg/kg, 45 mg/kg, and 60 mg/kg was used. The lead content was determined by inversion voltammetry and atomic emission spectroscopy. It has been shown that lead elimination is dose-dependent and can be described by a 2nd order polynomial.

On the 20th day of the experiment, 6% to 10% of the lead introduced into the body of rats has been eliminated depending on the lead dose. The relationship between the renal and intestinal routes of toxicant excretion depends on the dose of lead seed. The half-lives of lead turned out to be 61,9 days for a dose of 15 mg/kg, 69,5 days for a dose of 45 mg/kg, and 70,8 days for a dose of 60 mg/kg. The presented model can be used to assess the effect of therapeutic agents used in lead poisoning.

Keywords: lead, rats, elimination, urine, feces.

Переработанный материал поступил в редакцию 10.06.2019 г.

ЛУЧШАЯ РАБОТА В ОБЛАСТИ КЛИНИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

УДК 57.021:577.1

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ И АПОПТОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОГО ТЯЖЕЛОГО ОТРАВЛЕНИЯ ТИОПЕНТАЛОМ НАТРИЯ

Т.А. Кострова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Было проведено экспериментальное исследование по изучению влияния отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами на изменения концентрации нейротрофических факторов и факторов апоптоза у лабораторных животных. Острое отравление тиопенталом натрия моделировали однократным введением в дозе 85 мг/кг массы животного внутривенно. Через 1 месяц после отравления выжившие животные были подвергнуты эвтаназии для отбора биологического материала. Исследовались изменения концентрации нейротрофических маркеров: MBP, NSE, BDNF и PEDF в сыворотке крови лабораторных животных методом ИФА и апоптотические факторы в тканях головного мозга: каспаза 3, каспаза 9 и белок p53 методом иммуногистохимии. Полученные результаты показали нарушение гомеостаза нейротрофических факторов головного мозга, исследованных в сыворотке крови, а также индукцию апоптотических реакций, исследованных в тканях головного мозга лабораторных крыс. Данные изменения являются одним из патогенетических звеньев механизма поражения нервной системы, которое может проявляться в нарушении высшей нервной деятельности, в том числе изменении поведенческих реакций и когнитивных функций.

Ключевые слова: нейротоксиканты, нейротрофические факторы, факторы апоптоза, интоксикация, тиопентал натрия.

Введение. В картине острых отравлений первое место занимают интоксикации веществами, вызывающими первичное поражение головного мозга. В России острые тяжелые отравления депримирующими агентами составляют более половины от всех, поступающих в токсикологические центры [1]. По исследованной литературе, при бытовых отравлениях, составляющих подавляющее большинство, поражения центральной нервной системы, возникающие в отдаленном периоде после острой тяжелой интоксикации, не связываются с ней. Поэтому данные статистики о последствиях острых тяжелых отравлений нейротоксикантами отсутствуют [2]. В токсикологии недостаточно внимания уделяется вопросу

отдаленных последствий острых тяжелых отравлений нейротоксикантами для нервной системы. Между тем эта проблема не может считаться решенной. Неуклонно растет число неврологических нарушений по типу астенического синдрома, энцефалопатии и органических нарушений. Найденные в литературе данные описания клинических вариантов астенического синдрома и синдрома органического поражения головного мозга можно считать лишь феноменологической оценкой, не позволяющей достаточно эффективно планировать возможные направления фармакологической коррекции данных нарушений [3].

Известно, что увеличение образования активных форм кислорода вызывает нарушение вну-

триклеточного гомеостаза и запускает индуцирование митохондриального сигнального пути апоптоза клеток [4, 5]. В проведенных ранее исследованиях получены данные, что после острых тяжелых отравлений было выявлено нарушение гомеостаза нейротрофических маркеров, таких, как нейронспецифическая енолаза (NSE), основной белок миелина (MBP), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) и пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF). Нейронспецифическая енолаза (NSE) является ферментом гликолиза в тканях головного мозга и изменение ее концентрации свидетельствует о нарушении энергетики в клетках тканей ЦНС [6]. Основным белком миелина (MBP) является маркером разрушения миелиновых оболочек в нервной ткани [7]. Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), который защищает нейроны головного мозга от ишемических атак и мотонейроны от гибели, индуцируемой удалением аксонов, повышается при коматозном состоянии, которое сопровождается гипоксией [8]. Пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF) - нейротрофический и нейротрофический фактор, который воздействует на различные типы нейронов [9]. Изучение факторов апоптоза в предыдущих экспериментальных работах показало, что тиопентал натрия индуцировал экспрессию маркеров апоптоза каспазу 9, каспазу 3, белки p53 и bcl-2 в нервной ткани головного мозга крыс (разных зонах коры и гиппокампа). Также прослеживалась определенная закономерность между повышением активности ингибитора апоптоза белка bcl-2 и снижением активности каспаз, что соответствует сложившимся на настоящее время научным представлениям о протекании данного процесса [10].

Целью исследования явилось комплексное изучение изменений концентрации нейроспецифических и апоптотических маркеров в отдаленном периоде после острого тяжелого отравления тиопенталом натрия.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- исследовать нейроспецифические показатели в сыворотке крови в отдаленном периоде после острых тяжелых отравлений тиопенталом натрия;

- исследовать апоптотические факторы в тканях головного мозга в отдаленном периоде после острых тяжелых отравлений тиопенталом натрия.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось на 30 белых беспородных крысах-самцах 180-220 г. Животные содержались в соответствии с требованиями ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Животные были разделены на 2 группы: первая группа – контрольная, вторая – экспериментальная. Острое тяжелое отравление тиопенталом натрия моделировали однократным введением в дозе 85 мг/кг массы животного внутривенно [11]. Контрольным животным, в те же сроки внутривенно вводили физиологический раствор в дозе 1,0 мл/кг массы. Через 1 месяц после отравления выжившие животные были подвергнуты эвтаназии для отбора биологического материала. Исследовались изменения концентрации нейротрофических маркеров: MBP, NSE, BDNF и PEDF в сыворотке крови лабораторных животных методом ИФА. Для исследования апоптотических факторов в тканях головного мозга использовали первичные антитела к каспазе 3 (Rb pAb to active Caspase 3 (Abcam))

Таблица 1

Изменение концентрации показателей биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных через 1 месяц после острого тяжелого отравления тиопенталом натрия

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы	
	Контроль (N=10)	Эксперимент (N=10)
Нейронспецифическая енолаза (NSE), нг/мл	17038,2±927,5	12424,8±826,6*
Основной белок миелина (MBP), нг/мл	5,50±0,47	15,25±3,12*
Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), пг/мл	472,1±44,5	570,3±75,9
Пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF), нг/мл	225,3±12,7	259,1±6,0*

* - Различия достоверны по сравнению с контролем (при p ≤ 0,05; критерий Манна-Уитни)

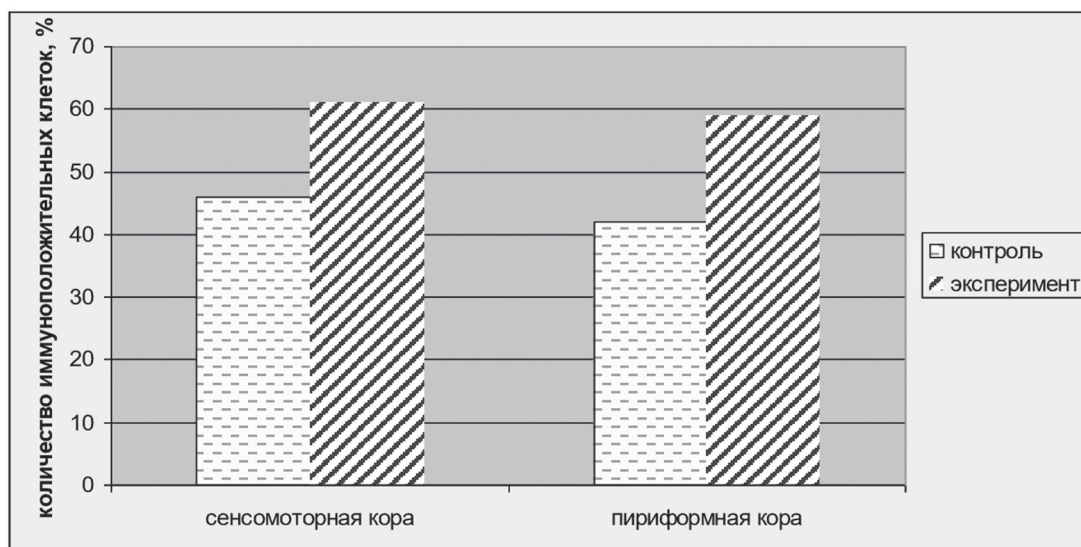


Рис. 1. Количество иммуноположительных к каспазе-9 клеток в структурах мозга через 1 месяц после воздействия тиопенталом натрия

и каспазе 9 (Rb mAb to Caspase 9 (Abcam)), белку p53 (p53 (C-19) goat polyclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology) и bcl-2 (bcl-2 (C-21) rabbit polyclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology). Препараты анализировали с помощью светового микроскопа Микромед 3, совмещенного с CCD камерой, съемку и сохранение изображений осуществляли с использованием программы WebCam Companion.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel. Вычисляли средние значения и стандартную ошибку ($M \pm m$) с использованием U-критерия Манна-Уитни при уровне значимости 0,05.

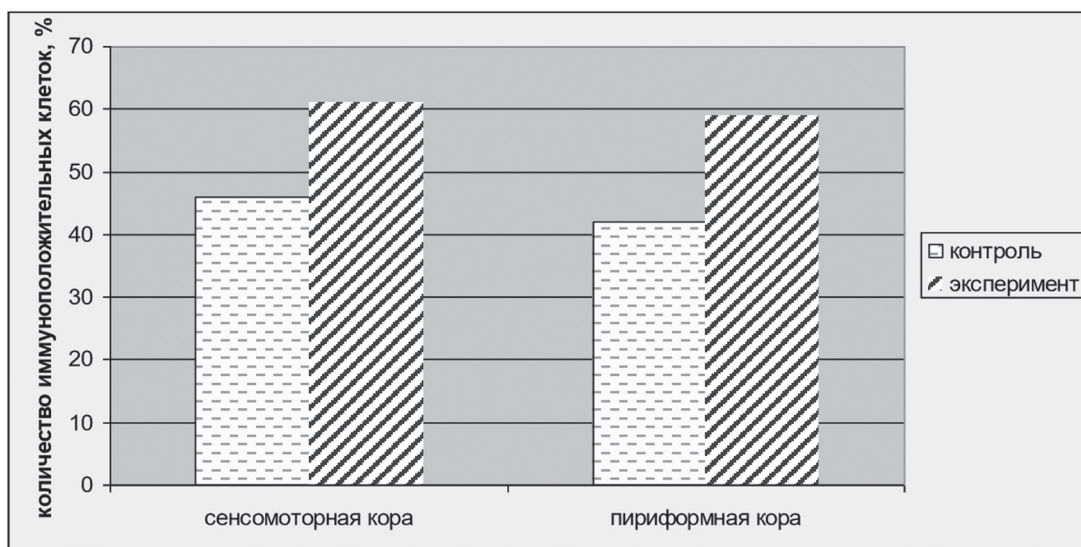
Результаты и обсуждение. В результате исследования показателей нейроспецифических белков у животных, перенесших острое тяжелое отравление, через 1 месяц после интоксикации зарегистрировано достоверное увеличение концентрации основного белка миелина (MBP) в 2,7 раза в группе животных после острого тяжелого отравления тиопенталом натрия по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Основной белок миелина является маркером разрушения миелиновых оболочек, его повышение связывают с демиелинизацией в клетках тканей головного мозга [7]. Также отмечалось снижение концентрации нейронспецифической енолазы (NSE) на 27,0% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. NSE используется в качестве маркера нарушения нейронального гликолиза [12], его снижение свидетельствует об угнетении энергетики в тканях головного мозга. При этом концентрация белка PEDF в экспериментальной группе животных после отравления тиопенталом натрия достоверно повышалась на

15,0% по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы. Белок PEDF способен предотвращать апоптотическую гибель клеток нейронов под действием перекисей [9]. Полученное увеличение концентрации PEDF через 1 месяц после интоксикации свидетельствует о компенсаторной реакции нервных клеток на наличие патологического процесса в тканях центральной нервной системы.

В результате иммуногистохимического исследования через 1 месяц после острого тяжелого отравления тиопенталом натрия на исследуемых срезах мозга выявлено развитие иммуноположительной реакции при использовании маркеров апоптоза – наблюдалась достоверное увеличение количества каспаза-9 положительных клеток в сенсомоторной и пириформной коре и достоверное увеличение количества каспаза-3 положительных клеток в ретроспленальной и сенсомоторной коре (рис. 1, 2). Следует отметить, что в сенсомоторной коре количество каспаза-3 положительных клеток выявлено преимущественно в нижнем слое. В зубчатой извилине гиппокампа иммуноположительную реакцию проявляли только единичные клетки, что значительно не отличалось от контроля. Белок bcl-2 экспрессировался локально в отдельных зонах ретроспленальной коры (гранулярный и дисгранулярный слой), но достоверно не отличался от показателей контрольной группы. В нейронах сенсомоторной зоны коры регистрировалась высокая активность данного белка, достоверно не отличавшаяся контрольной группы.

Увеличение в различных структурах головного мозга клеток с повышенной экспрессией каспаз-3 и -9, которые являются центральным



Количество иммуноположительных к каспазе-3 клеток в структурах мозга через 1 месяц после воздействия тиопенталом натрия

звеном в механизме апоптоза свидетельствует об ускорении клеточной гибели, продолжающейся через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия в тканях головного мозга. Данный факт подтверждается также отсутствием увеличения экспрессии белка bcl-2, который является антиапоптотическим и подавляет апоптоз во многих клеточных системах, регулирует клеточную гибель и ингибирует каспазы [10].

Заключение. Молекулярно-клеточные изменения в отдаленном периоде после острых тяжелых

отравлений нейротоксикантами характеризуются нарушением гомеостаза нейротрофических факторов головного мозга, а также увеличением количества каспазы 3, 9 положительных клеток в различных структурах головного мозга, что свидетельствует об ускоренной гибели клеток в тканях ЦНС [10]. Данные изменения являются одним из патогенетических звеньев механизма поражения центральной нервной системы, которое может проявляться в нарушении высшей нервной деятельности, в том числе изменении поведенческих реакций и когнитивных функций [13].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тарасова Ф.В., Почтарева Е.С., Пилишенко В.А., Куркин Д.М., Глушкова Н.Ю. Динамика и структура острых отравлений химической этиологии в Московской области за 2011-2013 гг. Москва: Роспотребнадзор; 2014: 4.
2. Горский А.А., Почтарева Е.С., Пилишенко В.А., Куркин Д.М., Глушкова Н.Ю. О состоянии условий труда и профессиональной заболеваемости работников в Российской Федерации. Здоровье населения и среда обитания. 2014; 2: 8-11.
3. Шилов В.В., Александров М.В., Васильев С.А. Коррекция мнестико-интеллектуальных нарушений в соматогенной стадии острых отравлений смесью психотропных препаратов. Фармакотерапия. 2012; 3: 63-65.
4. Кашуро В.А., Долго-Сабуров В.Б., Дагаев С.Г., Батоцыренова Е.Г., Кубарская Л.Г., Аксенов В.В. Изучение роли антиоксидантной системы и перикисного окисления липидов в патогенезе тиопенталовой комы. Химическая и биологическая безопасность. 2012; S: 3-7.
5. Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Минаева Л.В., Швецов А., Степанов С.В., Лапина Н.В., Бонитенко Е.Ю. Сигнальная функция активных форм кислорода при интоксикации тиопенталом натрия. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Социальные, гуманитарные, медико-биологические науки. 2014; 16(5-4): 1376-1379.
6. Кашуро В.А., Батоцыренова Е.Г., Елаева Н.Л., Савенко Ю.Н., Лапина Н.В., Аксёнов В.В. Динамика содержания нейротрофических факторов головного мозга при экспериментальной коме у крыс. Казанский медицинский журнал. 2013; 94(5): 695-699.
7. Чехонин В.П., Гурина О.И., Дмитриева Т.Б. Основной белок миелина. Строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний. Биомедицинская химия. 2000; 46(6): 549-563.
8. Lima Giacobbo B, Doorduyn J, Klein HC, Dierckx RAJO, Bromberg E, de Vries EFJ. Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. Molecular neurobiology. 2019; 56(5): 3295-3312.
9. Chen T, Li T, Wang J. p53 mediates PEDF-induced autophagy in human umbilical vein endothelial cells through sestrin2 signaling. Molecular medicine reports. 2019; 20(2):1443-1450.
10. Швецов А.В., Дюжикова Н.А., Савенко Ю.Н., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А. Влияние экспериментальной комы на экспрессию белка bcl-2 и каспаз-3,9 в мозге крыс. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 160(8): 178-181.
11. Башарин В.А., Гребенюк А.Н., Бонитенко Е.Ю., Иванов М.Б., Макарова Н.В. Экспериментальная модель барбитуратной комы Токсикологический вестник. 2010; 4 (103): 21-25.
12. Firat Oğuz E, Yılmaz FM, Tutkun E, Yılmaz ÖH, Ercan M, Sezer S. Serum S100B, NSE, and GRIA1 levels as neurological biomarkers in lead exposure. Turkish journal of medical sciences. 2018; 14; 48(3): 449-454.
13. Кострова Т.А., Лисицкий Д.С., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А. Исследование сочетанного действия тиопентала натрия и нарушения циркадианных ритмов на поведенческие реакции лабораторных животных. Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. 2018; 19: 167-181.

REFERENCES:

1. Tarasova F.V., Pochtareva E.S., Pilishenko V.A., Kurkin D.M., Glushkova N.Yu. Dynamics and structure of acute poisoning using etiology in the Moscow region for 2011-2013 Moscow: Rosпотребнадзор; 2014: 4. (in Russian)
2. Gorsky A.A., Pochtareva E.S., Pilishenko V.A., Kurkin D.M., Glushkova N.Yu. On the state of working conditions and occupational morbidity of workers in the Russian Federation. Public health and habitat. 2014; 2: 8-11. (in Russian)
3. Shilov V.V., Aleksandrov M.V., Vasiliev S.A. Correction of mnesitic-intellectual disorders in the somatogenic stage of acute poisoning with a mixture of psychotropic drugs. Pharmacotherapy. 2012; 3: 63-65. (in Russian)
4. Kashuro V.A., Dolgo-Saburov V.B., Dagayev S.G., Batotsyrenova E.G., Kubarskaya L.G., Aksenov V.V. Study of the role of the antioxidant system and lipid peroxidation in the pathogenesis of thiopental coma. Chemical and biological

safety. 2012; S: 3-7. (in Russian)

5. Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Minaeva L.V., Shvetsov A.V., Stepanov S.V., Lapina N.V., Bonitenko E.Yu. The signal function of reactive oxygen species when intoxicated with sodium thiopental. Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. Social, humanitarian, biomedical sciences. 2014; 16 (5-4): 1376-1379. (in Russian)

6. Kashuro V.A., Batotsyrenova E.G., Elaeva N.L., Savenko Yu.N., Lapina N.V., Aksyonov V.V. Dynamics of the content of neurotrophic brain factors in experimental coma in rats. Kazan Medical Journal. 2013;

94 (5): 695-699. (in Russian)

7. Chekhonin V.P., Gurina O.I., Dmitrieva T.B. The main protein is myelin. Structure, properties, functions, role in the diagnosis of demyelinating diseases. Bio-medical chemistry. 2000; 46 (6): 549-563. (in Russian)

8. Lima Giacobbo B, Doorduyn J, Klein HC, Dierckx RAJO, Bromberg E, de Vries EFJ. Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. Molecular neurobiology. 2019; 56(5): 3295-3312.

9. Chen T, Li T, Wang J. p53 mediates PEDF-induced autophagy in human

umbilical vein endothelial cells through sestrin2 signaling. Molecular medicine reports. 2019; 20(2):1443-1450.

10. Shvetsov A.V., Dyuzhikova N.A., Savenko Yu.N., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A. The effect of experimental coma on bcl-2 and caspase-3.9 protein expression in rat brain. Bulletin of experimental biology and medicine. 2015; 160 (8): 178-181. (in Russian)

11. Basharin V.A., Grebenyuk A.N., Bonitenko E.Yu., Ivanov M.B., Makarova N.V. An experimental model of barbiturate coma Toxicological Bulletin. 2010; 4 (103): 21-25. (in Russian)

12. Firat Oğuz E, Yılmaz FM, Tutkun E, Yılmaz ÖH, Ercan M, Sezer S. Serum S100B, NSE, and GRIA1 levels as neurological biomarkers in lead exposure. Turkish journal of medical sciences. 2018; 14; 48(3): 449-454.

13. Kostrova T.A., Lissitsky D.S., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A. Investigation of the combined effect of sodium thiopental and circadian rhythm disorders on the behavioral responses of laboratory animals. Medline.ru. Russian Biomedical Journal. 2018; 19: 167-181. (in Russian)

T.A. Kostrova

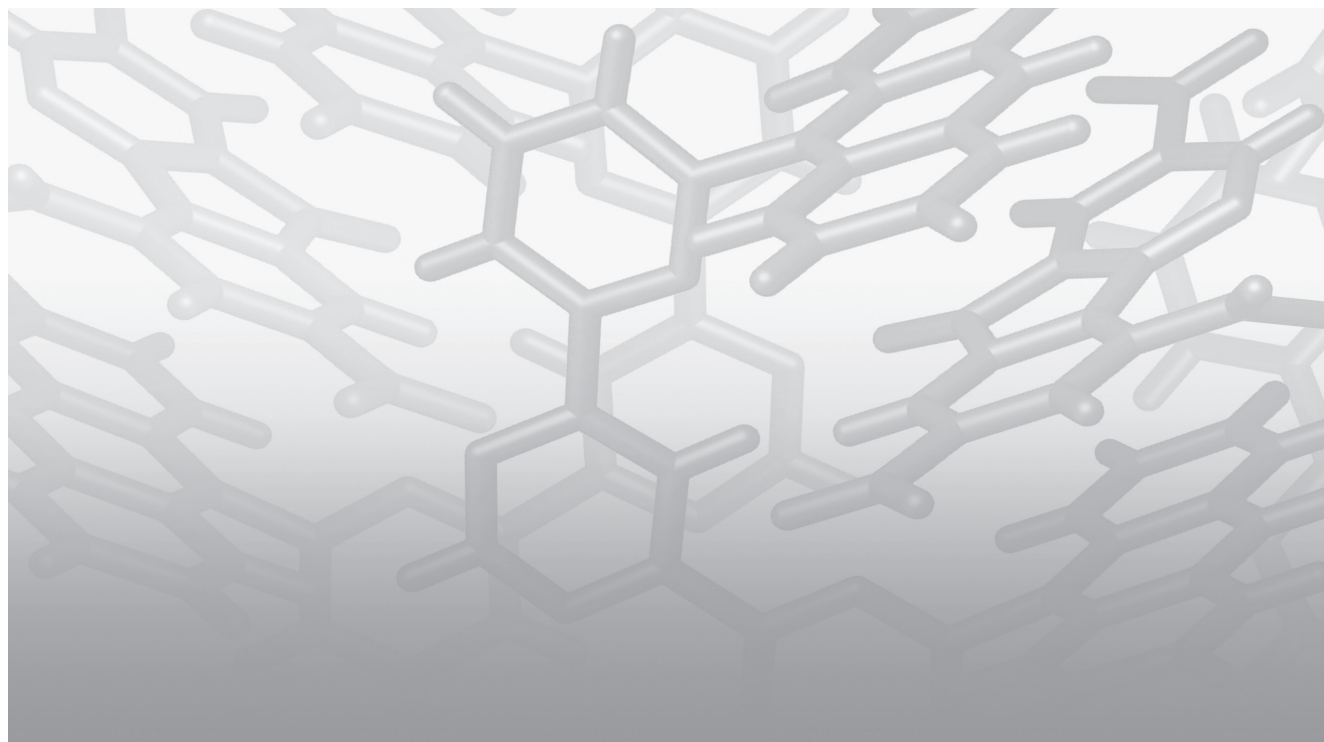
EXPERIMENTAL EVALUATION OF CHANGES IN NEUROTROPHIC AND APOPTOTIC FACTORS IN THE IMPLEMENTATION OF LONG-TERM CONSEQUENCES OF ACUTE SEVERE POISONING BY SODIUM THIOPENTAL

Institute of Toxicology of the Federal Medical-Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

The influence of long-term effects of acute poisoning by neurotoxicants on changes in the concentration of neurotrophic factors and factors of apoptosis in laboratory animals has been experimentally investigated. Acute sodium thiopental poisoning was modeled by a single intraperitoneal injection at a dose of 85 mg / kg. In one month after the poisoning the surviving animals were euthanized to select biological material. Changes in concentration of neurotrophic markers: MBP, NSE, BDNF and PEDF in blood serum of laboratory animals and apoptotic factors in brain tissues: caspase 3, caspase 9 and protein p53 have been estimated by ELISA and immunohistochemistry, respectively. The results showed impaired homeostasis of brain neurotrophic factors studied in serum, as well as induction of apoptotic reactions studied in brain tissues of laboratory rats. These changes are one of the pathogenetic links of the mechanism of damage to the nervous system, which can be manifested in violation of higher nervous activity, including changes in behavioral reactions and cognitive functions.

Keywords: neurotoxicants, neurotrophic factors, apoptosis factors, intoxication, sodium thiopental.

Переработанный материал поступил в редакцию 19.09.2019 г.



ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

ЛУЧШАЯ РАБОТА В ОБЛАСТИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

УДК 547:611.44

ТИРЕОИДНЫЙ СТАТУС МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПИРЕТРОИДА ЦИПЕРМЕТРИНА

Е.А. Чигринский

ФГБОУ ВО Омский государственный
медицинский университет
Минздрава России, 644099,
г. Омск, Российская Федерация

Цель данной работы – оценка тиреоидного статуса у мышевидных грызунов при воздействии синтетического пиретроида циперметрина.

Исследования проведены на 168 крысах-самцах (*Rattus norvegicus*) и 112 самцах красной полевки (*Myodes rutilus*). При моделировании острой интоксикации циперметрин вводили однократно в желудок в дозе $\frac{1}{2}$ ЛД₅₀ с последующим наблюдением за крысами в течение 30 суток, а за полевыми – 7 суток. При изучении хронической интоксикации циперметрин вводили крысам в дозе $\frac{1}{100}$ ЛД₅₀, а длительность эксперимента составляла 120 суток. Акарицидную обработку леса проводили на одной-двух гектарной площадке, а результаты отлова полевок и их тиреоидный статус сравнивали с полевыми, пойманными на фоновой площадке.

Синтетический пиретроид циперметрин в условиях острого и хронического экспериментов вызывает изменение тиреоидного статуса у лабораторных крыс, что выражается в снижении уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови. При этом у крыс отмечается повышение уровня тиреотропного гормона. Введение высокой дозы циперметрина ($\frac{1}{2}$ ЛД₅₀) самцам полевок в условиях полевого вивария также выявило чувствительность представителей данного вида к действию синтетических пиретроидов, что проявилось в снижении синтеза Т₄ и Т₃ в их щитовидных железах. Акарицидная обработка леса способствует временному изменению тиреоидного статуса у самцов красной полевки (*Myodes rutilus*), отловленных на территории обработанного участка, что, по-видимому, является следствием адаптивных изменений и миграционных процессов в популяции данного вида.

Ключевые слова: тиреоидные гормоны, синтетические пиретроиды, мышевидные грызуны, крысы, красная полевка.

Введение. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы тироксин (Т₄) и трийодтиронин (Т₃) участвуют в регуляции энергетического баланса организма [1, 2], участвуют в адаптации к сезонным изменениям [3-5] в том числе нейроэндокринной регуляции репродуктивной функции у млекопитающих [5, 6].

Некоторые экзогенные химические соединения, в том числе пестициды, способны влиять на выработку этих гормонов [7-9]. Большое ко-

личество научных публикаций посвящено нарушению функции щитовидной железы у рыб под воздействием синтетических пиретроидов [10, 11] и единичные лабораторные исследования выполнены на млекопитающих [12, 13].

Малоизученным на сегодня остается воздействие синтетических пиретроидов, используемых для акарицидной обработки леса, на эндокринную систему мелких млекопитающих. В связи с этим актуальным является оценка тиреоидного

статуса у мышевидных грызунов из природных популяций.

Цель данной работы – оценка тиреоидного статуса у мышевидных грызунов при воздействии синтетического пиретроида циперметрина (ЦМ; $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$).

Материалы и методы исследования. Исследования проводили с использованием двух видов мышевидных грызунов: альбиносов серой крысы (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769), представляющих собой лабораторную линию Вистар, и красных полевок (*Myodes rutilus* Pallas, 1779), отловленных из природной популяции на территории Исылкульского лесничества, находящегося в лесостепной зоне Омской области. В экспериментах использовали 168 самцов крыс с массой тела 240 ± 10 г и 112 самцов красной полевки массой $30 \pm 1,5$ г.

Лабораторный эксперимент состоял из двух этапов. На первом этапе оценивалась острая токсичность высокой дозы синтетического пиретроида ЦМ. Для этого было сформировано 8 групп по 12 животных в каждой. Крысы 1, 3, 5 и 7-й групп были контрольными и получали физиологический раствор внутрижелудочно. Крысам 2, 4, 6 и 8-й групп через зонд в желудок вводили ЦМ в дозе 137,5 мг/кг массы тела, что составляет $1/2$ ЛД₅₀. Для оценки тиреоидного статуса в динамике животных разных групп из опыта выводили последовательно: 1-й и 2-й групп – через 1 сутки, 3-й и 4-й групп – через 3 суток, 5-й и 6-й групп – через 7 суток, 7-й и 8-й групп – через 30 суток после введения изучаемого пестицида.

На втором этапе лабораторного эксперимента изучалась хроническая токсичность (влияние низких доз ЦМ). Для этого было сформировано 6 групп по 12 крыс в каждой. Животные 9-й, 11-й и 13-й групп были контрольными и ежедневно внутрижелудочно получали физраствор. Крысам 10-й, 12-й и 14-й групп ежедневно вводили ЦМ в дозах по 2,75 мг/кг, что соответствует $1/100$ ЛД₅₀. Выведение крыс из хронического эксперимента проводили в три срока: крыс 9-й и 10-й групп – через 30 суток, 11-й и 12-й – 60 суток, 13-й и 14-й групп – через 120 суток после начала эксперимента.

Полевой эксперимент также состоял из двух этапов. На первом оценивалось действие высокой дозы ЦМ на тиреоидный статус самцов красной полевки, а на втором – особенности функционирования щитовидной железы у полевок, обитающих на территории леса после акарицидной обработки с использованием ЦМ.

Для проведения полевого эксперимента выделялись три однотипные одногектарные площадки леса, отделенные буферными зонами не менее 1 км, на которых проводили отлов полевок при помощи живоловок. Одна из площадок исполь-

зовалась для отлова животных, которые в дальнейшем содержались в полевом виварии для проведения опыта по острой токсичности ЦМ для красных полевок (*Myodes rutilus*). Для этого 28 половозрелых самцов делили на две группы: 1-ю контрольную, получавшую физиологический раствор ($n=15$), и 2-ю опытную ($n=13$) – с однократным введением ЦМ в дозе 60 мг/кг ($1/2$ ЛД₅₀). Полевок 1-й и 2-й групп выводили из эксперимента спустя 7 суток после однократного введения токсической дозы изучаемого пиретроида. Две оставшиеся экспериментальные площадки леса использовались для оценки действия акарицидной обработки на тиреоидный статус самцов красной полевки. Одна площадка была фоновой «Ф» и являлась контролем, а вторая подвергалась акарицидной обработке с использованием ЦМ и обозначалась как площадка «Ц».

После проведения акарицидной обработки леса осуществляли отлов полевок спустя 7, 30 и 60 суток с обеих площадок. Отлов проводили при помощи живоловок, ориентируясь на рекомендации, описанные в работе Е.В. Карасевой и соавт. (2008) [14]. Соответствие изучаемому виду определяли по И.М. Громову, М.А. Ербаевой (1995) [15]. При проведении лабораторного и полевого опытов использовали циперметринсодержащий препарат «Шарпей» (ЗАО Фирма «Август», Россия).

Оценку тиреоидного статуса крыс и полевок определяли по концентрации общего T_4 и T_3 , а также отношению T_4/T_3 в крови. Кроме того, в лабораторном эксперименте у крыс определяли уровень тиреотропного гормона (ТТГ). В исследованиях использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа. При проведении опытов соблюдались требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Полученные в ходе лабораторного и полевого экспериментов данные подвергали математической обработке с использованием статистического непараметрического U -критерия Манна–Уитни. Результаты представлены как Me – медиана, Q_1 – нижний квартиль, Q_3 – верхний квартиль. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Однократное введение крысам ЦМ в дозе $1/2$ ЛД₅₀ не вызывает изменения уровня ТТГ, T_4 и T_3 в сыворотке крови в первые трое суток эксперимента (табл. 1). Однако спустя 7 суток после начала опыта в сыворотке крови лабораторных крыс наблюдалось снижение уровня T_4 и T_3 на фоне повышения концентрации ТТГ. На 30-е сутки эксперимента уровень T_4 и T_3 был по-прежнему ниже контрольных значений, несмотря на стимулирующее действие ТТГ. Отношение T_4/T_3 во все сроки острой инток-

Таблица 1

Изменение тиреоидного статуса самцов крыс (*Rattus norvegicus*) после однократного введения циперметрина в дозе 137,5 мг/кг ($1/2 LD_{50}$), Me (Q_1 ; Q_3)

Группа	ТТГ, мкМЕ/мл	T ₄ , нмоль/л	T ₃ , нмоль/л	T ₄ /T ₃
1 сутки				
1-я (n=12)	0,566 (0,489; 0,659)	70,7 (57,9; 79,8)	5,76 (4,73; 6,42)	12,4 (10,9; 13,4)
2-я (n=12)	0,658 (0,523; 0,815) p=0,2727	69,8 (37,3; 94,8) p=0,9540	5,41 (4,46; 6,31) p=0,5637	14,2 (9,8; 16,8) p=0,6442
3 суток				
3-я (n=12)	0,613 (0,520; 0,697)	78,2 (60,5; 81,1)	5,45 (4,81; 6,57)	12,5 (9,9; 16,4)
4-я (n=12)	0,684 (0,508; 0,762) p=0,4189	64,5 (43,7; 80,0) p=0,2481	5,82 (3,46; 6,69) p=0,6033	14,4 (9,7; 17,4) p=0,8625
7 суток				
5-я (n=12)	0,531 (0,466; 0,639)	67,9 (57,4; 78,7)	5,05 (4,76; 6,67)	11,9 (9,7; 15,8)
6-я (n=12)	0,821 (0,662; 0,900) p=0,0007	36,8 (31,8; 62,0) p=0,0047	3,52 (2,22; 4,08) p=0,0008	13,7 (8,5; 24,3) p=0,5254
30 суток				
7-я (n=12)	0,578 (0,534; 0,629)	66,2 (60,7; 77,4)	6,17 (5,09; 6,53)	11,8 (11,0; 12,6)
8-я (n=12)	0,806 (0,607; 0,875) p=0,0012	51,6 (37,8; 64,9) p=0,0243	4,09 (3,06; 4,35) p=0,0032	11,6 (7,8; 20,6) p=0,8614

Здесь и в табл. 2, 3 и 4: p – уровень статистической значимости различий по отношению к соответствующему контролю (фону).

сикации ЦМ не изменялось, что свидетельствует о пропорциональном снижении тиреоидных гормонов у экспериментальных животных при воздействии высокой дозы изучаемого пестицида.

Снижение уровня тиреоидных гормонов происходит не сразу, так как достаточное их количество находится в плазме крови, а также высвобождается из щитовидной железы, но на 7-е сутки интоксикации после повреждения щитовидной железы высокой дозой ЦМ начинает развиваться дефицит тиреоидных гормонов. В ответ на снижение уровня гормонов щитовидной железы в крови повышается концентрация ТТГ, однако это не приводит к восстановлению эндокринной функции щитовидной железы. Это подтверждает, что нарушение функции гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси при острой интоксикации ЦМ происходит на уровне щитовидной железы.

Ежедневное введение низких доз ЦМ крысам также способствует развитию гипотиреоза, но в отличие от острого эксперимента сначала происходит снижение уровня T₄ на 30-е сутки экс-

перимента, а затем обоих исследуемых тиреоидных гормонов, но уже на 60-е сутки (табл. 2). Выраженный дефицит тиреоидных гормонов сохранялся также и на 120-е сутки хронического эксперимента. С течением времени у крыс, получавших ежедневную низкую дозу ЦМ, наблюдался рост ТТГ (табл. 2), что свидетельствует о «напряженной» работе гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси.

При хроническом воздействии низких доз ЦМ наблюдается изменение отношения T₄/T₃, чего не происходило при остром отравлении крыс изучаемым пиретроидом. При хроническом же воздействии уже на 30-е сутки мы отмечали снижение отношения T₄/T₃. Вероятно, это является частью адаптационно-компенсаторных механизмов и связано с активным переводом T₄ в более биологически активный T₃, что способствует сохранению эффектов тиреоидных гормонов на фоне нарушения функции щитовидной железы.

Синтетические пиретроиды, в том числе и ЦМ, попадая в организм млекопитающих, подвергает-

Таблица 2

Тиреоидный статус самцов крыс (*Rattus norvegicus*), подвергнутых хронической интоксикации циперметрином в дозе 2,75 мг/кг/сут ($1/100$ ЛД₅₀), Ме (Q₁; Q₃)

Группа	ТТГ, мкМЕ/мл	T ₄ , нмоль/л	T ₃ , нмоль/л	T ₄ /T ₃
30 суток				
9-я (n=12)	0,596 (0,504; 0,682)	67,4 (59,6; 76,2)	5,68 (5,04; 5,96)	11,9 (9,99; 15,1)
10-я (n=12)	0,682 (0,435; 0,744) p=0,7290	45,0 (35,1; 62,4) p=0,0022	5,21 (3,37; 6,24) p=0,3556	9,92 (8,34; 10,9) p=0,0282
60 суток				
11-я (n=12)	0,561 (0,486; 0,647)	77,1 (58,7; 79,3)	5,44 (4,28; 6,34)	13,4 (11,8; 15,8)
12-я (n=12)	0,759 (0,714; 0,972) p=0,0003	36,5 (32,6; 62,8) p=0,0012	3,05 (2,60; 4,27) p=0,0039	13,3 (8,74; 18,8) p=0,9081
120 суток				
13-я (n=12)	0,536 (0,528; 0,723)	71,4 (58,5; 78,6)	6,08 (4,61; 6,50)	11,8 (10,0; 13,6)
14-я (n=12)	0,813 (0,619; 0,911) p=0,0102	58,0 (36,7; 60,0) p=0,0179	3,18 (2,36; 3,90) p=0,0003	15,3 (12,2; 19,8) p=0,0282

Таблица 3

Тиреоидный статус самцов красной полевки (*Myodes rutilus*) на седьмые сутки после однократного введения циперметрина в дозе 60 мг/кг ($1/2$ ЛД₅₀), Ме (Q₁; Q₃)

Группа	T ₄ , нмоль/л	T ₃ , нмоль/л	T ₄ /T ₃
Контроль (n=15)	36,7 (32,9; 42,0)	1,123 (1,005; 1,260)	33,7 (29,8; 36,3)
Циперметрин (n=13)	25,8 (21,4; 34,9) p=0,0040	0,587 (0,451; 0,901) p=0,0010	40,1 (35,2; 59,5) p=0,0200

ся гидролизу и модификации. Поэтому в полевых условиях практически невозможно определить дозу пестицида, полученную животными после акарицидной обработки леса. В связи с этим часть самцов красной полевки (*Myodes rutilus*), отловленных на площадке «Ф», была помещена в полевой виварий, где они содержались при той же температуре, влажности, получали в качестве корма те же растения, что поедали ранее до отлова. Минимальное изменение условий после отлова позволило оценить степень влияния контролируемой дозы пестицида на полевок.

Самцы полевок, содержащиеся в полевом виварии и получившие однократно высокую дозу ЦМ

($1/2$ ЛД₅₀), на 7-е сутки после начала эксперимента имели пониженную концентрацию тиреоидных гормонов в сыворотке крови (табл. 3). Кроме того, у них также наблюдалось изменение отношение T₄/T₃.

Следующим этапом полевого опыта было определение тиреоидного статуса у полевок, отловленных на территории участка леса, обработанного синтетическим пиретроидом ЦМ. Опыт показал, что у красных полевок (*Myodes rutilus*), отловленных на площадке «Ц», спустя 7 суток после акарицидной обработки наблюдался дефицит тиреоидных гормонов, что выражалось в снижении T₄ и T₃ в сыворотке крови по сравнению

Таблица 4

Изменение тиреоидного статуса у самцов красной полевки (*Myodes rutilus*), отловленных на территории леса после акарицидной обработки с использованием циперметрина, Me (Q1; Q3)

Площадка	T ₄ , нмоль/л	T ₃ , нмоль/л	T ₄ /T ₃
7 суток			
Фон (n=13)	36,1 (33,4; 40,7)	1,012 (0,762; 1,231)	36,4 (33,2; 41,5)
Циперметрин (n=10)	29,2 (26,5; 34,9) p=0,0120	0,724 (0,471; 0,913) p=0,0110	40,7 (38,8; 58,6) p=0,0407
30 суток			
Фон (n=15)	37,5 (30,0; 40,5)	1,172 (1,006; 1,57)	27,6 (24,5; 34,8)
Циперметрин (n=16)	23,8 (21,4; 28,7) p=0,0001	0,469 (0,398; 0,653) p<0,0001	52,0 (41,2; 62,2) p<0,0001
60 суток			
Фон (n=15)	34,6 (31,3; 42,4)	0,957 (0,640; 1,362)	40,0 (31,1; 46,9)
Циперметрин (n=15)	33,2 (26,1; 36,2) p=0,0890	0,643 (0,377; 1,120) p=0,1248	40,4 (35,2; 70,3) p=0,5203

с аналогичными показателями у полевок с фоновой площадки «Ф». Гипотиреоз у самцов полевок с площадки «Ц» наблюдался и на 30-е сутки после обработки леса. Однако спустя 60 суток после противоклещевой обработки отлов животных с опытной площадки показал отсутствие статистически значимых различий в концентрации тиреоидных гормонов у полевок с площадки «Ц». Это может свидетельствовать, с одной стороны, об адаптивных изменениях в организме полевок, а также, с большей долей вероятности, с миграцией зверьков. Таким образом, в живоловки наряду с животными, подвергнутыми действию пестицида, попадают зверьки, появившиеся впервые на этой территории леса. Поскольку ЦМ, как и другие синтетические пиретроиды, быстро разрушается в объектах окружающей

среды, пришьлые самцы красной полевки (*Myodes rutilus*) не получают с кормом данный пестицид и, следовательно, не испытывают на себе его токсическое действие.

Заключение. Синтетический пиретроид циперметрин в условиях острого и хронического экспериментов вызывает изменение тиреоидного статуса мышевидных грызунов, что выражается в снижении уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови. Акарицидная обработка леса способствует временному изменению тиреоидного статуса у самцов красной полевки (*Myodes rutilus*), отловленных на территории обработанного участка, что, по-видимому, является следствием адаптивных изменений и миграционных процессов в популяции данного вида.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Herwig A., Ross A.W., Nilaweera K.N., Morgan P.J., Barrett P. Hypothalamic thyroid hormone in energy balance regulation. *Obes. Facts.* 2008; 1(2): 71-9.
2. Nussey S, Whitehead S. *Endocrinology: An Integrated Approach.* Oxford: BIOS Scientific Publishers; 2001.
3. Petri I., Diedrich V., Wilson D., Fernandez-Calleja J., Herwig A., Steinlechner S. et al. Orchestration of gene expression across the seasons: Hypothalamic gene expression in natural photoperiod throughout the year in the Siberian hamster. *Sci. Rep.* 2016; 6: 29689.
4. Scherbarth F., Steinlechner S. Endocrine mechanisms of seasonal adaptation in small mammals: from early results to present understanding. *J. Comp. Physiol. B.* 2010; 180(7): 935-52.
5. Verma R., Haldar C. Photoperiodic modulation of thyroid hormone receptor, deiodinase-2 and glucose transporters expression in testis of adult golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *J Photochem Photobiol B.* 2016; 165: 351-8.
6. Viguie C., Battaglia D.F., Krasa H.B., Thrun L.A., Karsch F.J. Thyroid hormones act primarily within the brain to promote the seasonal inhibition of luteinizing hormone secretion in the ewe. *Endocrinology.* 1999; 140(3): 1111-7.
7. Yaglova N.V., Yaglov V.V. Changes in thyroid status of rats after prolonged exposure to low dose dichlorodiphenyltrichloroethane. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2014; 156(6): 760-2.
8. Movasseghi A.R., Rodriguez-Estival J., Smits J.E.G. Thyroid pathology in deer mice (*Peromyscus maniculata*) from a reclaimed

mine site on the athabasca oil sands. *Environ. Pollut.* 2017; 222: 42-9.

9. Zhang Q., Ji C., Yin X., Yan L., Lu M., Zhao M. Thyroid hormone-disrupting activity and ecological risk assessment of phosphorus-containing flame retardants by in vitro, in vivo and in silico approaches. *Environ. Pollut.* 2016; 210: 27-33.

10. Giroux M., Gan J., Schlenk D. The

effects of bifenthrin and temperature on the endocrinology of juvenile Chinook salmon. *Environ. Toxicol. Chem.* 2019; 38(4): 852-61.

11. Tu W., Xu C., Jin Y., Lu B., Lin C., Wu Y. et al. Permethrin is a potential thyroid-disrupting chemical: In vivo and in silico evidence. *Aquat. Toxicol.* 2016; 175: 39-46.

12. Al-Amoudi W.M. Toxic effects of Lambda-cyhalothrin, on the rat thyroid: Involvement of oxidative stress and ameliorative effect of ginger extract. *Toxicol. Rep.* 2018; 5: 728-36.

13. Sekeroglu V., Sekeroglu Z.A., Demirhan E. Effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on thyroid hormone levels in rat serum. *Toxicol. Ind.*

Health. 2014; 30(1): 40-6.

14. Карасева Е.В., Телицына А.Ю., Жигальский О.А. Методы изучения грызунов в полевых условиях. М.: ЛКИ; 2008.

15. Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб: ЗИН РАН; 1995.

REFERENCES:

1. Herwig A., Ross A.W., Nilaweera K.N., Morgan P.J., Barrett P. Hypothalamic thyroid hormone in energy balance regulation. *Obes. Facts.* 2008; 1(2): 71-9.

2. Nussey S., Whitehead S. *Endocrinology: An Integrated Approach.* Oxford: BIOS Scientific Publishers; 2001.

3. Petri I., Diedrich V., Wilson D., Fernandez-Calleja J., Herwig A., Steinlechner S. et al. Orchestration of gene expression across the seasons: Hypothalamic gene expression in natural photoperiod throughout the year in the Siberian hamster. *Sci. Rep.* 2016; 6: 29689.

4. Scherbarth F., Steinlechner S. Endocrine mechanisms of seasonal adaptation in small mammals: from early results to present understanding. *J. Comp. Physiol. B.* 2010; 180(7): 935-52.

5. Verma R., Haldar C. Photoperiodic modulation of thyroid hormone receptor, deiodinase-2 and glucose transporters expression in testis of adult golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *J Photochem Photobiol B.* 2016; 165: 351-8.

6. Viguie C., Battaglia D.F., Krasa H.B., Thrun L.A., Karsch F.J. Thyroid hormones act primarily within the brain to promote the seasonal inhibition of luteinizing hormone secretion in the ewe. *Endocrinology.* 1999; 140(3): 1111-7.

7. Yaglova N.V., Yaglov V.V. Changes in thyroid status of rats after prolonged exposure to low dose dichlorodiphenyltrichloroethane. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2014; 156(6): 760-2.

8. Movasseggi A.R., Rodríguez-Estival J., Smits J.E.G. Thyroid pathology in deer mice

(*Peromyscus maniculata*) from a reclaimed mine site on the athabasca oil sands. *Environ. Pollut.* 2017; 222: 42-9.

9. Zhang Q., Ji C., Yin X., Yan L., Lu M., Zhao M. Thyroid hormone-disrupting activity and ecological risk assessment of phosphorus-containing flame retardants by in vitro, in vivo and in silico approaches. *Environ. Pollut.* 2016; 210: 27-33.

10. Giroux M., Gan J., Schlenk D. The effects of bifenthrin and temperature on the endocrinology of juvenile Chinook salmon. *Environ. Toxicol. Chem.* 2019; 38(4): 852-61.

11. Tu W., Xu C., Jin Y., Lu B., Lin C., Wu Y. et al. Permethrin is a potential thyroid-disrupting chemical: In vivo and in silico evidence. *Aquat. Toxicol.* 2016; 175: 39-46.

12. Al-Amoudi W.M. Toxic effects of Lambda-

cyhalothrin, on the rat thyroid: Involvement of oxidative stress and ameliorative effect of ginger extract. *Toxicol. Rep.* 2018; 5: 728-36.

13. Sekeroglu V., Sekeroglu Z.A., Demirhan E. Effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on thyroid hormone levels in rat serum. *Toxicol. Ind. Health.* 2014; 30(1): 40-6.

14. Карасева Е.В., Телицына А.Ю., Жигальский О.А. Методы изучения грызунов в полевых условиях. М.: ЛКИ; 2008.

15. Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб: ЗИН РАН; 1995.

E.A. Chigrinski

THYROID STATUS IN MOUSE-LIKE RODENTS UNDER THE INFLUENCE OF SYNTHETIC PYRETHROID CYPERMETHRIN

Omsk State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 644099, Omsk, Russian Federation

The aim of this work was to evaluate the thyroid status in mouse-like rodents under the influence of synthetic pyrethroid cypermethrin.

The studies were performed on 168 male rats (*Rattus norvegicus*) and 112 male red voles (*Myodes rutilus*). When simulating acute intoxication, cypermethrin was injected once into the stomach at a dose of $\frac{1}{2}$ LD₅₀ followed by observation of rats for 30 days and voles for 7 days. When studying chronic intoxication, cypermethrin was administered to rats at a dose of 1/100 LD₅₀, the duration of the experiment was 120 days. Acaricidal treatment of the forest was carried out on a one-hectare site, and the results of the capture of voles and their thyroid status were compared with voles caught on the background site.

Synthetic pyrethroid cypermethrin in acute and chronic experiments causes a change in thyroid status in laboratory rats, which is reflected in a decrease in the level of thyroid hormones in the blood serum. Moreover, there is an increase in the level of thyroid-stimulating hormone in rats. The introduction of a high dose of cypermethrin ($\frac{1}{2}$ LD₅₀) into male voles under field vivarium conditions also revealed the sensitivity of representatives of this species to the action of synthetic pyrethroids, which was manifested in a decrease in the synthesis of T₄ and T₃ in their thyroid glands. Acaricidal forest treatment contributes to a temporary change in thyroid status in male red field vole (*Myodes rutilus*) caught in the treated area, which, apparently, is a consequence of adaptive changes and migration processes in the population of this species.

Keywords: thyroid hormones, synthetic pyrethroids, mouse-like rodents, rats, red vole.

Материал поступил в редакцию 14.06.2019 г.



ХИМИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

НОВОСТИ О ХОДЕ ПОДГОТОВКИ ДОКУМЕНТОВ ВТОРОГО УРОВНЯ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ ТР ЕАЭС «О БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ»(041/2017)

Решением совещания представителей уполномоченных органов государств-членов ЕЭС по рассмотрению проектов приложений 7 и 8 к проекту порядка формирования и ведения реестра химических веществ и смесей ТР ЕАЭС «О безопасности химической продукции» от 6-7 августа 2019 г. № 16-37/рг и пунктом 2 Решения Протокола совещания у заместителя директора Департамента химико-технологического комплекса и биоинженерных технологий Минпромторга России Д.Ф. Латбуллина от 09 сентября 2019 г. №13-1359 ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора было поручено доработать проект приложения 7 «Перечень химических веществ, ограниченных к применению на таможенной территории Евразийского экономического союза» и переработать проект приложения 8 «Перечень условий, определяющих необходимость проведения исследований (испытаний) химической продукции к проекту порядка формирования и ведения реестра химических веществ и смесей ТР ЕАЭС «О безопасности химической продукции».

Для веществ Приложения 7 «Перечень химических веществ, ограниченных к применению на таможенной территории Евразийского экономического союза» выверены химические названия и номера CAS, классы опасности по СГС для отдельных химических веществ. Во избежание двойного регулирования из перечня выведены вещества, применяющиеся исключительно как действующие вещества лекарственных средств, пестицидов.

Что касается проекта Приложения 8, то оно было серьезно пересмотрено. Были изменены название и структура документа. Проект получил название «Общие правила этапности и проведения исследований (испытаний) химической продукции», которое на наш взгляд наиболее отражает суть документа. Приложение содержит

- Общие правила этапности проведения исследования (испытания) химической продукции
- Общие правила проведения исследований (испытаний) химической продукции
- Физико-химические свойства химической продукции
- Токсические свойства химической продукции
- Экотоксические свойства химической продукции

В каждом разделе представлены условия, при которых не требуется проведения исследования (испытания) физико-химических, токсикологических и экотоксикологических свойств химической продукции.

**Директор ФБУЗ РПОХБВ
Роспотребнадзора
Член международной экспертной
группы ЕАЭК по созданию документов
второго уровня ТР ЕАЭС
«О безопасности химической
продукции»(041/2017)
Х.Х.Хамидулина**

