



СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

| | |
|---|----|
| Резолюция 3-го съезда токсикологов России | 2 |
| Леженина Н.Ф., Лужников Е.А., Ермохина Т.В., Боровкова Н.В., Лисовик Ж.А., Ельков А.Н. Значение иммунологических показателей в диагностике токсико-гипоксической энцефалопатии при острых отравлениях веществами нейротоксичного действия..... | 8 |
| Кравченко Л.В., Трусов Н.В., Ускова М.А., Аксенов И.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Васильева М.А., Селифанов А.В., Тутельян В.А. Характеристика острого токсического действия четыреххлористого углерода как модели окислительного стресса..... | 12 |
| Базельюк Л.Т., Исакова С.А. Цитоморфологические показатели гепаторенальной системы у экспериментальных животных при ингаляционной заправке парами элементарной серы..... | 18 |
| Горбунов С.М., Резник В.С. Влияние ингибирования бутирилхолинэстеразы у мышей на острую токсичность некоторых антихолинэстеразных веществ..... | 23 |
| Пылев Л.Н., Васильева Л.А., Смирнова О.В., Везенцев А.И., Гудкова Е.А. Активные радикалы кислорода и волокнистый (асбестовый) канцерогенез | 27 |
| Фролова И.Г., Жуков В.Е. Параметры токсичности Vx в модифицированных условиях кожного воздействия..... | 31 |
| Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П. Механизмы индукции и потенцирования цитопатогенных эффектов эндотоксина <i>Yersinia pestis</i> | 35 |
| Нам спрашивают | 40 |
| Юбилейные даты <i>Сергей Петрович Нечипоренко</i> (к 60-летию со дня рождения)..... | 41 |
| БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ | |
| Монографии Международного агентства по изучению рака (МАИР) по оценке канцерогенного риска для человека (том 89) | 43 |
| Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ..... | 45 |
| Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам | 48 |
| Перечень химических и биологических веществ, для которых в ноябре-декабре 2008 г. закончился срок действия государственной регистрации..... | 49 |
| Перечень химических и биологических веществ, прошедших государственную регистрацию (сообщение № 84) | 50 |
| Правила для авторов..... | 52 |

| | |
|--|----|
| Resolution of the 3rd Congress of Russian Toxicologists | 2 |
| Lezhenina N.F., Luzhnikov Ye.A., Yermokhina T.V., Borovkova N.V., Lisovik Zh.A., Yelkov A.N. Significance of immunological indicators in diagnosis of toxicohypoxic encephalopathy at acute poisoning by substances of neurotoxic action | 8 |
| Kravchenko L.V., Trusov N.V., Uskova M.A., Aksyonov I.V., Avrenyeva L.I., Guseva G.V., Vasilyeva M.A., Selifanov A.V., Tutelyan V.A. Characterization of carbon tetrachloride acute toxicity as a model of oxidative stress | 12 |
| Bazelyuk L.T., Iskakova S.A. Cytomorphologic indicators of the hepatorenal system in laboratory animals at inhalation poisoning by elemental sulfur..... | 18 |
| Gorbunov S.M., Reznik V.S. Impact of inhibition of Butyrylcholinesterase (BChE) on acute toxicity of certain anticholinesterase substances in mice | 23 |
| Pylyov L.N., Vasilyeva L.A., Smirnova O.V., Vezentsev A.I., Gudkova Ye.A. Reactive oxygen species (ROS) and fiber (asbestos) carcinogenesis | 27 |
| Frolova I.G., Zhukov V.Ye. Vx toxicity parameters under modified dermal exposure conditions | 31 |
| Afanasyeva G.A., Chesnokova N.P. Induction and potentiation mechanisms of cytopathogenic effects posed by <i>Yersinia pestis</i> endotoxin | 35 |
| We are queried..... | 40 |
| Anniversaries <i>Serguey Petrovich Nechiporenko</i> <i>His 60th anniversary</i> | 41 |
| BULLETIN OF THE RUSSIAN REGISTER OF POTENTIALLY HAZARDOUS CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES | |
| Monographs IARC on the evaluation of the carcinogenic risk to humans (vol. 89) | 43 |
| News on toxicity and hazard of chemical and biological substances | 45 |
| New publications on toxicology and related disciplines..... | 48 |
| List of chemical and biological substances for which the duration of state registration expires in November-December 2008..... | 49 |
| List of chemical and biological substances registered on the state level (list № 84) | 50 |
| Rules for authors..... | 52 |

УДК 615.9(063)(470)

РЕЗОЛЮЦИЯ 3-го СЪЕЗДА ТОКСИКОЛОГОВ РОССИИ 2–5 декабря 2008 г., Москва

Делегаты 3-го съезда токсикологов России с удовлетворением отмечают, что за период с момента проведения предыдущего съезда в 2003 г. органами здравоохранения и Всероссийской общественной организацией токсикологов (Российское токсикологическое общество), несмотря на сложное социально-экономическое положение в стране, проведена значительная работа по обеспечению токсикологического раздела химической безопасности России.

С 2009 г. начинается реализация федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2013 годы)», в которой предусмотрено создание сети центров индикации и диагностики опасных отравлений химическими веществами. Планируется создание 7-ми новых центров, дислоцированных в различных федеральных округах Российской Федерации.

При совместном участии Минздравсоцразвития России и МПР России за последние годы подготовлены и приняты законы «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», «Об охране окружающей среды», «Об охране атмосферного воздуха», «Об отходах производства и потребления», «О безопасном обращении с пестицидами». Завершена работа по подготовке и принятию федерального закона о питьевой воде и питьевом водоснабжении. Создана и работает федеральная комиссия по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию, активно внедряется в деятельность органов здравоохранения социально-гигиенический мониторинг. Издано совместное постановление Главного государственного санитарного врача РФ и Главного государственного инспектора по охране природы об использовании методологии оценки риска для управления качеством окружающей среды и здоровья населения. Разработаны и внедрены методические и нормативные документы по оценке риска. Издано фундаментальное руководство «Общая токсикология», учебник «Военная токсикология».

Роспотребнадзором, Федеральным медико-биологическим агентством и Всероссийским центром медицины катастроф «Защита» осуществляется комплекс мероприятий, направленных на развитие и совершенствование структуры медицинского обеспечения защищенности персонала крайне важных для национальной безопасности объектов инфраструктуры и населения.

Научными и практическими учреждениями здравоохранения, связанными с проблемами профилактики и лечения отравлений и заболеваний химической этиологии, выполнен большой объем мероприятий, позволяющий сдерживать негативное развитие ситуации. Осуществляются исследования по оценке токсичных свойств химических веществ и разработке нормативов, активно осуществляется государственная регистрация Роспотребнадзором потенциально опасных химических и биологических веществ. Создана и работает во всех регионах информационно-поисковая система «Опасные вещества», содержащая информацию об обращающихся в России химических соединениях.

Подготовлен для практики ряд важных нормативно-методических документов и методических рекомендаций. Пересмотрены и утверждены гигиенические нормативы допустимого содержания вредных веществ в разных средах.

Возросло взаимодействие токсикологии со смежными науками, такими как генетика, молекулярная биохимия, информатика, прикладная математика, системный анализ и др. Существенно усилилась работа по гармонизации отечественных норм и правил с нормативами, принятыми в ЕЭС и США.

По Государственному заказу Минздравсоцразвития России разработана концепция борьбы со смертностью населения при острых отравлениях химической этиологии. Изданы фундаментальные монографии «Неотложная клиническая токсикология», «Эндотоксикоз при острых экзогенных отравлениях» и новый учебник для студентов медицинских вузов «Клиническая токсикология».

Активно сотрудничают ФГУ «Научно-практический токсикологический центр Росздрава» и Центр острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского в области научного и методического руководства проблемами совершенствования оказания токсикологической помощи в стране. Российские токсикологи принимают активное участие в ежегодных конгрессах Европейской ассоциации центров отравлений и клинических токсикологов. В 39 субъектах Российской Федерации функционирует система специализированной медицинской помощи населению при острых воздействиях химических факторов окружающей среды, которая включает 44 стационара токсикологического профиля, где

развернуты 1300 токсикологических коек и трудятся около 300 врачей токсикологов.

Постепенно набирает темп создание хими-ко-токсикологических и информационно-консультативных подразделений, предусмотренных приказом Минздрава России от 08.01.2002 № 9 «О дальнейшем совершенствовании токсикологической помощи населению Российской Федерации». Развивается токсикологический мониторинг как самостоятельная, но неотъемлемая часть социально-гигиенического мониторинга Роспотребнадзора. Создано и официально оформлено приказом Минздравсоцразвития России от 21.02.2005 № 152 «О дальнейшем совершенствовании информационно-консультативной токсикологической помощи населению Российской Федерации» новое и перспективное направление клинической токсикологии – информационно-консультативная поддержка специалистов и населения по вопросам диагностики, лечения острых отравлений и химической безопасности бытовой среды.

Отечественная информационно-поисковая токсикологическая система «POISON» версия 3, которая содержит клинико-токсикологическую информацию по 3040 токсикантам, внедрена в 30 территориях страны, что на 30% больше, чем в 2003 г.

В области лекарственной токсикологии продолжались фундаментальные и прикладные исследования, направленные на совершенствование оценки безопасности вновь синтезированных лекарственных препаратов. Создан ряд экспериментальных моделей заболеваний с целью изучения на них токсичности лекарственных препаратов, предназначенных для лечения аналогичных заболеваний в клинике.

В 2005 г. увидело свет 2-е издание Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ, дополненное методическими указаниями по изучению всех видов токсичности фармакологических препаратов, полученных на основе биотехнологии. В новое издание включены также Правила лабораторной практики в РФ и методические рекомендации по инспектированию лаборатории (организации), выполняющей доклинические исследования.

Подготовлены методические рекомендации по определению безопасной дозы нового фармакологического вещества для проведения 1-фазы клинических испытаний у взрослых волонтеров, что способствует гармонизации отечественных рекомендаций с современными международными правилами доклинической оценки безопасности лекарственных средств.

Росздравнадзором утвержден перечень научных учреждений, имеющих право проведения

доклинических токсикологических исследований.

Совместно с НП Центром новых медицинских технологий «ТЭМП» за счет средств программы БиоПромышленная Инициатива (ВИ) Государственного Департамента США проведено 5 семинаров на тему «Повышение квалификации специалистов по доклиническим токсикологическим исследованиям лекарственных средств». В России создан и начал свою работу Федеральный центр мониторинга безопасности лекарственных средств.

Отмечая большой объем работы проделанной за период между съездами, 3-й съезд токсикологов обращает внимание на то, что несмотря на снижение в ряде городов выбросов вредных веществ, связанное с сокращением промышленного производства, «химическая ситуация» в стране по-прежнему остается крайне напряженной. Высок процент превышения нормативов содержания токсичных веществ в атмосферном воздухе, воде водоемов, почве. Особенно значительные загрязнения отмечаются в промышленно развитых регионах. На ряде территорий наблюдается устойчивое ухудшение состояния окружающей среды. Ежегодно в атмосферный воздух выбрасывается более 200 млн т. химических веществ, 84 млн т. токсических отходов накоплено на территории России.

Загрязнения токсичными химическими веществами регистрируются на всей территории России, даже вдали от источников загрязнения. Стойкие органические загрязнители такие как ПАУ, полихлорированные дифенилы, диоксины, фураны, ДДТ, ряд пестицидов определяются в окружающей среде практически повсеместно. Особую опасность представляет автомобильный транспорт, являющийся основным источником атмосферных загрязнений. Не решается проблема разработки аварийных пределов воздействия химических веществ (АПВ), имеющихся только для ОВ и некоторых токсических агентов.

Продолжает оставаться неблагоприятной производственная среда. Прямым следствием неудовлетворительных условий труда является высокий уровень профессиональной заболеваемости химической этиологии.

В 2007 г. произошло более 600 тыс. острых отравлений химической этиологии, уровень смертности при которых составил 73,4 тыс. случаев. В предыдущие 6 лет ежегодная смертность от острых отравлений держалась на отметке 80–90 тыс. случаев. Более 60% умерших при данной патологии составляют мужчины и женщины трудоспособного и фертильного возрастов. Для сравнения: по данным Минздравсоцразвития России в 2007 г. среди взрослого населения было зарегистрировано 666,9 тыс. случаев нару-

шения цереброваскулярного кровообращения и 161,8 – инфаркта миокарда, которые сопровождались 93,2 и 40,3 тыс. летальных исходов соответственно.

Однако действующая система токсикологической помощи в стране обеспечивает квалифицированной помощью не более 50% населения. По-прежнему, больничная летальность пациентов с данной патологией в стационарах общего профиля в среднем по стране в 2,4–2,5 раз выше, чем в токсикологических центрах/отделениях.

Острые отравления химической этиологии наносят обществу не только медицинский, но также существенный экономический и социальный ущерб. Например, в Свердловской области количество недоданного валового регионального продукта из-за преждевременной смерти трудоспособных мужчин и женщин от острых отравлений составило 345,9 млн рублей в 1998 г. и 3227,7 млн рублей в 2004 г. соответственно. Общий объем экономического ущерба от преждевременной смертности трудоспособного населения по причине острых отравлений за период с 1998 по 2004 гг. составил 11389,2 млн руб.

При этом не учитывается социальный ущерб от преждевременно утраченной репродуктивной функции у женщин и мужчин фертильного возраста, уровень которой и так является одной из главных причин неблагоприятной демографической ситуации в стране.

Несмотря на наличие приказа Минздрава России от 25.12.2000 № 460 «Об утверждении учетной документации токсикологического мониторинга» и приказа Роспотребнадзора от 30.10.2007 № 305 «Об утверждении форм отраслевого статистического наблюдения № 12-07 «Сведения о результатах токсикологического мониторинга», токсикологический мониторинг до сегодняшнего дня ведется нерегулярно и не во всех территориях Российской Федерации. Имеется ряд объективных причин усложняющих налаживание этой работы:

- прежде всего это разный подход к учету случаев острых отравлений органов Федеральной службы статистики, Роспотребнадзора, медицинских информационно-аналитических центров, бюро медицинской статистики;

- регистрация Федеральной службой статистики отравлений в одном разделе с травмами, ожогами и последствиями воздействия других внешних причин, причем, фиксируются лишь случайные отравления алкоголем и наркотическими препаратами без учета других этиологических факторов.

- наличием в статистической отчетности Минздрава России информации

только по больным, госпитализированным в стационары, тогда как больные, получившие в стационарах амбулаторную токсикологическую помощь, не учитываются, хотя и составляют от 21,4 до 34,6% всех больных, обратившихся за медицинской помощью в связи с отравлением; больные, обслуженные на дому бригадами скорой и неотложной медицинской помощи и не госпитализированные, вообще не отражаются в статистической отчетности.

В настоящее время стационары токсикологического профиля действуют лишь 39 из 89 субъектов Российской Федерации.

Не развита сеть информационных токсикологических центров. Центры (отделения) лечения отравлений (за исключением Московского) крайне неудовлетворительно оснащены оборудованием для лабораторной химико-токсикологической диагностики, аппаратурой для проведения искусственной детоксикации. Неудовлетворительным является снабжение лекарственными средствами для лечения химической патологии, что сказывается на безопасности функционирования химических производств и защите здоровья населения. Подавляющая часть средств антидотной терапии не включена в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств первой необходимости. Принятая в настоящее время форма учета острых отравлений не позволяет сделать анализ токсической ситуации и осуществить мероприятия по профилактике этой патологии. Положение о токсикологических подразделениях ЦГСЭН не удовлетворяет современным требованиям.

Неудовлетворительно поставлено преподавание токсикологии в медицинских ВУЗах, поскольку изучение основ этой дисциплины разделено между различными кафедрами. Из медико-профилактического профиля исключена специальность «Профилактическая токсикология». Отсутствует информация межотраслевых научных советов о проводимых научных исследованиях в области токсикологии.

В этой связи в настоящее время важно концентрировать целенаправленную деятельность органов здравоохранения в отношении химических веществ, внедрять современные формы работы и международный опыт, в особенности оценку и управление риском.

Интересы России в области химической безопасности требуют принятия новых решений для повышения качества деятельности научных, лечебных и санитарно-профилактических учреждений. Эта работа должна осуществляться по организационным, научным, кадровым и законодательно-правовым направлениям.

1. Организационные задачи

1.1. Президиуму Правления Всероссийской общественной организации токсикологов ходатайствовать перед Правительством РФ о создании межведомственной комиссии по химической безопасности.

1.2. Считать целесообразным продолжать создание в региональных Центрах Госсанэпиднадзора на базе токсикологических отделений информационно-аналитических подразделений по сбору информации о токсичности и опасности химических веществ, ведению региональных баз данных, а также участию в оценке риска и социально-гигиеническом мониторинге на обслуживаемой территории.

1.3. Усилить взаимодействие научно-исследовательских институтов и вузов с практически учреждениями санитарной службы и центрами по лечению острых отравлений, а также центрами медицины катастроф по вопросам токсикологии.

1.4. Ходатайствовать перед Минздравсоцразвития РФ о завершении создания нормативно-методической базы токсикологического мониторинга и обеспечения его систематическое ведение органами Госсанэпиднадзора и лечебно-профилактическими учреждениями.

1.5. Ходатайствовать перед Роспотребнадзором об обеспечении организации и современного оснащения химико-токсикологических лабораторий во всех территориальных центрах острых отравлений и при необходимости региональных химико-токсикологических лабораторий.

1.6. Ходатайствовать перед Минздравсоцразвития РФ о государственном финансировании обеспечения лечебно-профилактических учреждений антидотами и другими средствами терапии и организации региональных банков антидотов. Считать необходимым создание системы страховых запасов медицинских средств химической защиты, а также сырья материалов и комплектующих изделий, необходимых для их изготовления и для обеспечения важных для химической безопасности объектов.

1.7. Интенсифицировать организацию сети территориальных информационно-консультативных токсикологических подразделений для повышения качества токсикологической помощи и обеспечения ею населения территорий, где отсутствуют стационары токсикологического профиля.

1.8. Интенсифицировать разработку и внедрение стандартов оказания специализированной медицинской помощи пострадавшим от острых химических отравлений.

1.9. Создать условия для подготовки врачей токсикологов с целью опережающего обеспече-

ния вновь создаваемых информационно-консультативных токсикологических подразделений и действующих центров острых отравлений квалифицированным врачебным персоналом.

1.10. Осуществить поиск и внедрение эффективных механизмов экономического стимулирования деятельности научных и практических учреждений, обеспечивающих единство профилактических, лечебных и реабилитационных мероприятий.

1.11. Оказать содействие в разработке единой системы определения тарифов для компенсации расходов на лечение больных с острыми отравлениями с учетом тяжести и особенностей химической патологии.

1.12. Разработать предложения о создании единой системы финансирования резервных токсикологических центров и отделений (токсикологии и реанимации) химико-токсикологических лабораторий, информационно-токсикологических отделений.

1.13. Возбудить ходатайство перед Министерством труда о тождественности условий работы врачей клинической токсикологии с врачами анестезиологами-реаниматологами для исчисления льготных пенсий и тарификации по заработной плате (то же и для медсестер).

1.14. Выступить с ходатайством перед Министерством здравоохранения и социального развития Российской Федерации о внесении изменений в приказ № 112 от 11 марта 2008 г. «О номенклатуре специальностей специалистов с высшими послевузовским медицинским и фармацевтическим образованием в сфере здравоохранения Российской Федерации».

Предлагается внести специальность «Токсикология» в качестве основной врачебной специальности для врачей с дипломом «Лечебное дело», «Педиатрия», «Медико-профилактическое дело».

Допустить получение основной специальности «токсикология» через профессиональную переподготовку для врачей анестезиологов-реаниматологов и терапевтов центров (отделений) лечения острых отравлений, врачей общей практики клинической лабораторной диагностики и скорой медицинской помощи, а также врачей с основной специальностью «Общая гигиена».

1.15. Правлению Всероссийской общественной организации токсикологов разработать предложения по созданию кафедр токсикологии в университетах и медицинских ВУЗах страны и введению в номенклатуру врачебных специальностей:

- в список базовых специальностей медико-профилактического профиля — токсикология;
- в список базовых специальностей медико-профилактического профиля — токсикология.

1.16. Активизировать научные связи и расширить участие российских токсикологов в деятельности международных организаций, в программах, проектах и научных форумах с целью обмена опытом и дальнейшей гармонизации правил, норм и требований по охране здоровья человека и качества окружающей среды.

1.17. Научному совету по токсикологии (№ 43) совместно со службой Госсанэпиднадзора, ФМБА России, Всероссийской службой медицины катастроф рассмотреть вопрос о принципах организации медицинской помощи и взаимодействия различных ведомств при химических авариях и чрезвычайных ситуациях, связанных с использованием высокотоксичных химических веществ.

1.18. Обратиться в РАМН с предложением создать рабочую группу для координации исследований по доклинической оценке безопасности современных лекарственных средств.

1.19. Обратит внимание Минздравсоцразвития России на необходимость совершенствования подготовки специалистов органов здравоохранения к возникновению ситуаций, связанных с химическим терроризмом.

1.20. Просить Минздравсоцразвития России и Роспотребнадзор осуществить централизованные закупки журнала «Токсикологический вестник» для ЦГСЭН и специализированных токсикологических подразделений.

1.21. Продолжить издание информационно-справочных монографий «Вредные химические вещества».

2. Научные задачи

2.1. Обратит внимание Минздравсоцразвития России и РАМН на необходимость расширения фундаментальных исследований по оценке токсичности, опасности и управлению риском химических и биологических веществ и препаратов.

2.2. Рекомендовать создание в системе РАМН комплексных многофункциональных исследовательских многопрофильных коллективов по изучению влияния токсикантов на различные системы организма.

2.3. Считать приоритетными работы по изучению механизма действия и биотрансформации химических веществ, в том числе влияния на генетическое регулирование жизненно важных функций, а также разработке средств и методов специфической профилактики и терапии острых и хронических отравлений.

2.4. Ходатайствовать о включении проблем токсикологии в научную программу по нанотехнологии в качестве самостоятельного раздела.

2.5. Придать первостепенное значение изучению причин и последствий заболеваний детей, обусловленных химическими воздействиями, их профилактике и лечению.

2.6. Проводить исследования токсичности и опасности веществ с целью их регламентирования с учетом региональных особенностей.

2.7. Расширять исследования по разработке альтернативных моделей и ускоренных методов оценки токсичности и внедрению их в практику.

2.8. Придать особое значение изучению отдаленных последствий действия химических веществ, включая влияние на наследственность и потомство, поведенческие реакции и эндокринную систему.

2.9. Проводить изучение степени опасности продуктов биотехнологической промышленности, в том числе генной инженерии с целью совершенствования нормативно-методической базы по обеспечению их безопасного производства.

2.10. Уделить особое внимание изучению токсичности и опасности стойких органических загрязнителей и пестицидов, в том числе их способности перемещаться в окружающей среде.

2.11. Одобрить проведение научных исследований по биопрофилактике химических воздействий и рекомендовать их продолжение.

2.12. Завершить подготовку к переизданию новой редакции «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ» в соответствии с современными требованиями.

2.13. Создать нормативно-методическую документацию для доклинического изучения БАД, в случае использования их в качестве лекарственных средств, эквивалентную лекарственным препаратам.

2.14. Поставить перед Минздравсоцразвития России вопрос о специализированных токсикологических лабораториях и центрах соответствующих требованиям надлежащей лабораторной практики.

2.15. Создать условия для подготовки специалистов в области лекарственной токсикологии. С этой целью включить курс «Лекарственная токсикология» в учебную программу кафедр фармакологии медицинских вузов.

2.16. Создать информационную базу по результатам мониторинга побочного действия лекарственных средств в России.

2.17. Разработать методические рекомендации по экспериментальному изучению потенциальных токсических эффектов лекарственного взаимодействия на доклиническом этапе разработки лекарственных средств.

2.18. Просить МПР России возобновить издание научных обзоров по токсичности и опасности химических веществ в рамках существующего международного проекта ЮНЕП-ЦМП «Поддержка деятельности по управлению химическими веществами в странах СНГ».

2.19. Просить Всероссийскую общественную организацию токсикологов оказывать поддержку деятельности по управлению химическими веществами в странах СНГ.

2.20. Разрабатывать методы диагностики донозологических состояний здоровья, уровня и степени адаптации к действию химических факторов.

2.21. Разработать научно обоснованные критерии классификации и перечень промышленных аллергенов.

2.22. Уделить особое внимание сбору и анализу информации по побочному токсическому действию лекарственных средств с целью своевременного исключения потенциально опасных препаратов из медицинской практики.

2.23. Поставить перед министерствами и ведомствами вопрос о необходимости разработки аварийных регламентов для химических веществ.

2.24. Разработать объективные формы информирования населения о токсичности и опасности химических и биологических веществ, обеспечить широкий доступ населения к этой информации.

3. Кадровое обеспечение

3.1. Ходатайствовать перед Минздравсоцразвития России об улучшении обеспечения органов здравоохранения квалифицированными кадрами токсикологов, способными эффективно решать профессиональные задачи в условиях формирования рыночной экономики.

3.2. Повышать творческий потенциал науки путем привлечения токсикологов из практики к научной деятельности и подготовке диссертаций. Проводить анализ диссертационных работ по токсикологии.

4. Законодательно-правовое обеспечение

4.1. Добиваться утверждения Федерального закона «О безопасности химических веществ».

4.2. Обосновать принятие специального правительственного документа об обязательном преимущественном государственном финансовом обеспечении медицинской деятельности в области токсикологии.

4.3. Поставить вопрос о принятии правительством России единого документа «О надлежащей лабораторной практике при исследовании, оценке и регламентировании химических веществ», включая использование альтернативных методов исследования.

4.4. Поставить перед Правительством России вопрос о необходимости скорейшей ратификации Стокгольмской конвенции о стойких органических загрязнителях и Роттердамской конвенции о процедуре предварительного обоснованного согласия об опасных химических веществах в международной торговле.

3-й съезд токсикологов России выражает уверенность в том, что консолидация токсикологической общественности, совершенствование деятельности и структуры специализированных учреждений, усиление политики государства в области химической безопасности позволит добиться перелома в обеспечении безопасного обращения химических веществ для охраны здоровья человека в период глубоких социально-экономических преобразований.

3-й съезд токсикологов России одобрил деятельность Правления Всероссийской общественной организации токсикологов (Российское токсикологическое общество) за период 2003 по 2008 гг. и избрал новый состав Правления.

СПИСОК ЧЛЕНОВ ПРАВЛЕНИЯ ВСЕРОССИЙСКОЙ ОБЩЕСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ТОКСИКОЛОГОВ

1. Арзамасцев Е.В., г. Москва
2. Березовская И.В., г. Москва
3. Гребенюк А.Н., г. С.-Петербург
4. Гуськова Т.А., г. Москва
5. Дурнев А.Д., г. Москва
6. Завьялов Н.В., г. Москва
7. Иванов В.Б., г. Москва
8. Кацнельсон Б.А., г. Екатеринбург
9. Красовский Г.Н., г. Москва
10. Курляндский Б.А., г. Москва
11. Лужников Е.А., г. Москва
12. Нечипоренко С.П., г. С.-Петербург
13. Остапенко Ю.Н., г. Москва
14. Остроумов С.А., г. Москва
15. Ракитский В.Н., г. Москва
16. Ревазова Ю.А., г. Москва
17. Ревич Б.А., г. Москва
18. Рембовский В.Р., г. С.-Петербург
19. Рожнов Г.И., г. Москва
20. Сарвилина И.В., г. Ростов—на-Дону
21. Сидорин Г.И., г. С.-Петербург
22. Савченков М.Ф., г. Иркутск
23. Софронов Г.А., г. С.-Петербург
24. Терегулова З.С., г. Уфа
25. Тутельян В.А., г. Москва
26. Филатов Б.Н., г. Волгоград
27. Хамидулина Х.Х., г. Москва
28. Черняк Ю.И., г. Ангарск
29. Шилов В.В., г. С.-Петербург

УДК 616.831-099-078

Н.Ф.Леженина*, Е.А.Лужников, Т.В.Ермохина, Н.В.Боровкова, Ж.А.Лисовик, А.Н.Ельков

ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ДИАГНОСТИКЕ ТОКСИКО-ГИПОКСИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ ВЕЩЕСТВАМИ НЕЙРОТОКСИЧНОГО ДЕЙСТВИЯ

ГОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава, Москва
ГУЗМ НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения
г. Москвы

Исследованы иммунологические показатели при острых отравлениях веществами нейротоксичного действия, в частности психофармакологическими препаратами (амитриптилином, карбамезипином, азалептином), осложненных развитием токсико-гипоксической энцефалопатии (ТГЭ). Оценена их диагностическая значимость для определения тяжести ТГЭ и для включения в комплекс детоксикации субстратного антиоксиданта цитофлавина.

Ключевые слова: иммунологические показатели, токсико-гипоксическая энцефалопатия, диагностика, отравления веществами нейротоксичного действия, комплекс детоксикации, цитофлавин.

Введение. Очень опасным осложнением при наиболее распространенных острых экзогенных отравлениях веществами нейротоксичного действия является токсико-гипоксическое поражение головного мозга. Данная проблема исследована преимущественно в психоневрологическом аспекте на этапе реабилитации [2], при этом возрастает актуальность поиска клинико-лабораторных критериев для ранней диагностики, прогноза токсико-гипоксического поражения ЦНС и выбора наиболее эффективного комплекса профилактических лечебных мероприятий.

При изучении данных лабораторной диагностики острых экзогенных отравлений психофармакологическими препаратами (ПФП) в первые часы заболевания отмечаются отклонения от нормы многих показателей гомеостаза, характеризующих развитие экзо и эндотоксикоза [4, 7]. Обнаружена связь дисбаланса в иммунной системе с нейромедиаторными расстройствами при формировании токсико-гипоксической энцефалопатии (ТГЭ) [2, 3]. Для выявления специфических и неспецифических гомеостатических реакций возникает необходимость в анализе взаимосвязей нарушений различных физиологических систем в целях прогнозирования неблагоприятного течения ТГЭ и соответствующей коррекции проводимого лечения.

Материалы и методы исследования. С целью выявления клинико-лабораторных тестов ТГЭ в токсикогенной стадии острых отравлений ПФП и разработки оптимальной медицинской технологии лечения был проведен анализ динамики симптомов повреждения ЦНС у 247 больных

в зависимости от тяжести отравлений, концентрации токсикантов в сыворотке крови, гомеостатических нарушений и проводимой терапии. Больные находились на лечении в Московском городском Центре острых отравлений НИИ СП им. Н.В.Склифосовского.

Для диагностики ТГЭ проводили психоневрологическое обследование больных, включавшее общепринятые тесты оценки степени нарушения функций ЦНС по шкале ком Глазго (ШКГ). Тяжесть и вид отравлений определяли на основании концентраций ПФП и их метаболитов в сыворотке крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на автоматическом анализаторе REMEDI HS Drug Profiling System и флуоресцентного поляризационного иммуноанализа (ФПИА) на анализаторе AxSYM (фирмы АВВОТ, США). В качестве подтверждающего метода была применена газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) [9].

Иммунологическое исследование крови всех пациентов проводили в лаборатории клинической иммунологии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского на 1–2-е сутки после отравления. В венозной крови определяли относительное и абсолютное количество CD3+ (Т-лимфоциты), CD19+ (В-лимфоциты) лимфоцитов с помощью моноклональных антител, функциональное состояние нейтрофильных фагоцитов по латекс – и НСТ-тестам, уровень иммуноглобулинов А, М и G иммунодиффузионным методом по Манчини. Содержание циркулирующих иммунных комплексов больших, средних и малых величин определяли методом осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000) в разных концентрациях [10].

* фрагмент диссертационной работы

Таблица 1

Концентрации нейротоксикантов при развитии тяжелого и среднетяжелого течения ТГЭ у пациентов с острыми отравлениями ПФП

| Токсикант | Группа больных | | |
|--------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| | I ШКГ до 5 баллов | II ШКГ до 7 баллов | III ШКГ до 9 баллов |
| Амитриптилин | 0,39–4,54 1,72±0,42 (2) | 0,23–2,31 1,06±0,19** (2) | 0,58–1,07 0,83±0,07 (2) |
| Карбамазепин | 12,4–19 15,7±3,3 (2) | 15,4–28,3 23,4±2,5 (2) | 6,34–24 16,2±3,0* (2) |
| Азалептин | 0,76–3,8 2,48±0,78 (3) | 0,14–3,16 1,30±0,35* (2) | 0,27–1,8 0,67±0,16 (2) |

Примечание: * – достоверность различий по отношению к I-ой группе $p < 0,05$
(2) – критическая концентрация, (3) – смертельная концентрация

Оценку выраженности эндотоксикоза проводили по уровню средне-молекулярных пептидов (СМП) в сыворотке крови и по способности альбумина связывать гидрофобные токсины по методу Добрецова Г.Е. и соавт. [11]. Сбалансированность естественных процессов детоксикации определяли по коэффициенту интоксикации (КИ) [6].

При поступлении в стационар больным проводили комплекс детоксикационной терапии, включающий физиогемотерапию – (ультрафиолетовую и лазерную), химиогемотерапию гипохлоритом натрия, эфферентные методы искусственной детоксикации (гемосорбцию и гемодиализ в модификациях), а также кишечный лаваж путем введения через гастроэнтеральный зонд солевого энтерального раствора (СЭР) [8]. После завершения эфферентной детоксикации для восстановления метаболических процессов в ЦНС был использован субстратный антигипоксикант цитофлавин в суточной дозе по 40 мл раствора для внутривенного введения. На курс применяли от 40 до 100 мл указанного раствора [1].

Полученные клинико-лабораторные данные были сформированы в базу с использованием электронных таблиц Excel и анализировались с использованием пакетов программ для статистического анализа Statistika-6 и SSP.

Результаты и обсуждение. В сравнительном аспекте были рассмотрены три группы больных. В I-ю группу были включены 60 больных, состояние сознания которых на момент первичного осмотра при поступлении в стационар оценивалось до 5 баллов по ШКГ, что соответствует глубокой коме. У всех больных указанной группы при поступлении в стационар отмечали нарушения внешнего дыхания по смешанному типу. По классификации Е.А.Лужникова [12], по тяжести клинических проявлений указанные больные были отнесены к III-ей стадии отравлений ПФП. Во II-ю группу были включены 95 больных с угнетением сознания до 7 баллов по ШКГ, что было расценено как поверхностная кома и соответствовало, в связи с наличием нарушений дыхания, IIБ стадии отравлений ПФП.

В III-ю группу были включены 92 больных с угнетением сознания до 9 баллов по ШКГ и отсутствием значимых нарушений дыхания, что было расценено как IIIА стадия отравлений ПФП. Рассматриваемые группы были сопоставимы по полу, возрасту пациентов и по виду токсикантов, явившихся причиной отравления. Было установлено, что у больных I и II-ой групп регистрировались смертельные и критические концентрации ПФП, а у больных III-ей группы

Таблица 2

Характеристика нейропсихических синдромов у больных с острыми отравлениями ПФП при формировании ТГЭ

| Показатель | I группа n = 60 | II группа n = 95 | III группа n = 92 |
|---|--------------------|---------------------|----------------------|
| Продолжительность токсикогенной стадии, часы | 68,75±6,3 | 69,3±6,4 | 24,08±2,5 |
| Продолжительность комы, часы | 29,63±4,0 | 17,04±1,93* | 6,6±0,9** |
| Продолжительность тяжелой астении, часы | 215,3±24,32 | 180,2±22,19 | 35,4±2,6* |
| Частота встречаемости проявлений отека мозга, % | 18 (30) | 14 (15) | – |
| Благоприятный исход, % | 41 (68) | 81 (85) | 92 |
| Умершие, % | 19 (32) | 14 (15) | – |

Примечание: * – достоверность различий по отношению к I-ой группе $p < 0,01$
** – достоверность различий по отношению к I-ой группе $p < 0,05$

критические концентрации указанных нейротоксикантов (табл. 1).

Клинические данные, свидетельствующие о значительном угнетении сознания в совокупности с результатами химико-токсикологического исследования, позволяли судить о том, что все больные находились в токсикогенной стадии отравлений ПФП.

При анализе клинического течения отравлений ПФП в указанных группах были выделены больные с длительно протекающими нарушениями сознания. В I-ой группе подобные проявления отмечали у 80% больных, во II-ой группе у 53 (53%) больных, а в III-ей, наименее тяжелой группе, только у 27 (29%) пациентов. Динамика восстановления сознания у пациентов в разных группах носила фазовый характер: период глубокой или поверхностной комы на фоне проводимой комплексной детоксикации сменялся в соматогенной стадии периодом тяжелой посткоматозной астении, которая в свою очередь переходила в умеренное астеническое состояние. Продолжительность психоневрологических нарушений у больных с острыми отравлениями ПФП в зависимости от тяжести химической травмы представлены в табл. 2.

В I-ой первой группе, включавшей наиболее тяжелых пациентов, продолжительность исходного периода глубокой комы на фоне лечения составила $29,63 \pm 4,0$ ч. Во II-ой группе, сформированной из пациентов с угнетением сознания до поверхностной комы, этот период на фоне лечения был короче в 1,7 раза. В III-ей группе исходное состояние нарушения сознания сопор или неосложненная поверхностная кома продолжались в течение $6,6 \pm 0,9$ ч.

Во всех изучаемых случаях отравлений ПФП отмечен переход комы или сопора в состояние тяжелой формы ТГЭ, продолжительность которой составила 49,7% всего периода клинически значимых расстройств сознания в I-ой группе, 42,8% во II-ой группе и 28% в III-ей группе. Указанный вид психоневрологических расстройств был определен как наиболее продолжительный в течении ТГЭ.

Длительное течение психоневрологических расстройств сопровождалось существенными изменениями показателей системы иммунитета и неспецифической резистентности организма (табл. 3) уже в токсикогенной стадии отравлений ПФП.

Ретроспективный анализ показал, что в I-ой группе больных с глубокой комой и последующим развитием ТГЭ наблюдался умеренный лейкоцитоз и относительная лимфопения, отмечалось увеличение метаболической активности нейтрофилов по данным спонтанного НСТ-теста (табл. 3). Указанные реакции клеток крови в токсикогенной стадии отравлений нейротоксикантами свидетельствовали о преобладании неспецифических гомеостатических стрессовых механизмов по типу системной воспалительной реакции на химическую травму. Наряду с этим, у больных отмечали недостаточность гуморального звена иммунитета, что проявлялось в дефиците относительного и абсолютного числа CD19+ лимфоцитов (B-лимфоцитов) и статистически достоверном снижении концентрации сывороточного иммуноглобулина G (табл. 3). Таким образом, диагностической особенностью ТГЭ тяжелой степени являлось развитие недостаточности гуморального звена иммунитета.

Таблица 3

Сравнительная характеристика показателей системы иммунитета у больных I и II-ой групп в токсикогенной стадии острых отравлениях ПФП

| Показатель | Здоровые доноры n = 26 | I группа, M±m | Δ% | II группа, M±m | Δ% | III группа, M±m | Δ% |
|-----------------------------|------------------------|---------------|-------|----------------|-----|-----------------|-----|
| Лейкоциты, тыс. в мкл | 6,5±3,0 | 11,5±0,90* | 77,0 | 12,4±0,89* | 91 | 12,2±0,75 | 87 |
| Нейтрофилы, % | 61,0±5,0 | 85,8±1,69* | 40,7 | 85,2±2,48* | 40 | 81,8±1,91 | 34 |
| Лимфоциты, % | 28,9±9,0 | 9,8±0,97 | -66,0 | 12,8±1,03 | -56 | 15,3±1,67 | -47 |
| T-лимфоциты, кл/мкл | 920±25,0 | 530±22,5 | -42,4 | 665±49,3 | -28 | 844±63,6 | -8 |
| T-лимфоциты, % | 55,0±3,0 | 62,3±3,97 | 13,3 | 60,8±1,119 | 11 | 51,1±1,74 | -7 |
| B-лимфоциты, кл/мкл | 192±15,0 | 67,3±5,30* | -64,9 | 88,5±12,7 | -54 | 204±25,2 | 6 |
| B-лимфоциты, % | 14,0±2,0 | 8,1±1,11* | -42,0 | 14±2,06 | 0 | 12,4±1,20 | -11 |
| Латекс-тест, % | 45,0±3 | 45,6±2,17 | 1,29 | 47,4±1,9 | 5 | 44,7±1,26 | -1 |
| Спонтанный НСТ-тест, % | 8,6±0,5 | 24,9±2,07* | 189 | 15,9±2,0 | 86 | 14,0±1,03 | 63 |
| Индукцированный НСТ-тест, % | 18,4±1,0 | 26,7±1,8*1 | 45,2 | 25,26±2,2* | 37 | 28,3±0,9* | 54 |
| Коэффициент активации | 3,0±0,1 | 1,3±0,22* | -56,9 | 1,7±0,098* | -43 | 2±0,15 | -33 |
| Ig A, г/л | 2,2±0,2 | 1,8±0,12 | -16,2 | 2,02±0,16 | -8 | 2,0±0,09 | -10 |
| Ig M, г/л | 1,5±0,1 | 1,6±0,18 | 3,4 | 2,3±0,329* | 53 | 1,8±0,36 | 21 |
| Ig G, г/л | 12,0±1,2 | 7,6±0,36* | -36,5 | 7,97±0,88* | -34 | 9,2±0,34 | -23 |

Во II-ой группе у пациентов с поверхностной комой также наблюдалось развитие стереотипной воспалительной реакции. У больных отмечался умеренный лейкоцитоз, относительная лимфопения, умеренная активация спонтанной метаболической активности нейтрофилов (табл. 3). Так же, как и у пациентов I-ой группы снижалась концентрация иммуноглобулина G, но указанный дефицит компенсировался увеличением выработки иммуноглобулина M, что свидетельствовало о сохраненной детоксикационной функции иммунной системы у больных с поверхностной осложненной комой.

При анализе иммунологических сдвигов у больных в III-ей группе выявлено развитие лейкоцитоза и умеренного снижения относительного числа лимфоцитов, при этом фагоцитарная и метаболическая активность нейтрофильных гранулоцитов, относительное и абсолютное число CD3+ и CD19+ лимфоцитов, концентрация сывороточных иммуноглобулинов регистрировались в пределах физиологической нормы.

Таким образом, иммунные нарушения, выявленные в группах больных с глубокой, поверхностной осложненной комой коррелировали с тяжестью химической травмы и развитием осложнения в виде ТГЭ, что подтверждает их маркерный характер для ранней диагностики поражения ЦНС при острых отравлениях ПФП.

Нарушения иммунологических показателей у больных I и II-ой групп сопровождались угнетением процессов естественной детоксикации, выразившимся в снижении эффективной концентрации альбумина (ЭКА) и накоплении СМП, в связи с чем коэффициент КИ повышался в 1,6 раза, что свидетельствовало о развитии первой стадии тяжелого эндотоксикоза [6].

Приоритетное изменение иммунных показателей позволило предусмотреть в лечении наиболее тяжелых пациентов с развитием ТГЭ методов, направленных на их коррекцию. Наиболее эффективным оказалось сочетание стимуляции естественных процессов детоксикации с помощью физиогемотерапии (лазерной, ультрафиолетовой) и комплекса искусственной детоксикации (гемосорбция, гемодиализ), положительное влияние которых на систему иммунитета показано в многочисленных исследованиях [4, 5, 7]. Включение в указанный алгоритм лечения субстратного антиоксиданта цитофлавина в соматогенной стадии отравлений повышает эффективность общего иммунокорректирующего действия [1]. Предложенная технология лечения позволила уменьшить к 3-им суткам неблагоприятную воспалительную реакцию и предотвратить депрессию гуморального звена, что в целом сопровождалось сокращением длительности клинических проявлений ТГЭ в соматогенной стадии в 3,5 раз и снижением летальности в

1,7 раза.

Заключение. Изучение иммунологических показателей в токсикогенной стадии отравлений ПФП позволяет наряду с другими клинико-лабораторными исследованиями оценить тяжесть ТГЭ и химической травмы.

Развитию ТГЭ при указанной патологии сопутствует системная воспалительная реакция, отражением которой служат иммунологические сдвиги, которые могут рассматриваться в качестве маркеров эффективности лечения.

Наблюдаемая при развитии ТГЭ лечебная эффективность препаратов со свойствами субстратных антиоксидантов (ЦФ), применяемых после детоксикационной терапии в соматогенной стадии отравлений ПФП, обусловлена усилением ее иммунокорректирующего действия.

Список литературы

1. **Бельских А.Н., Фуфаев Е.Е.** Применение антиоксиданта цитофлавина в сочетании с экстракорпоральной гемокоррекцией у больных с острыми легочными нагноениями // *Вестник интенсивной терапии*, 2007. — № 2. — С. 75-79.
2. **Епифанова Н.М., Лужников Е.А., Ишмухаметов А.И. и др.** Динамика токсико-гипоксической энцефалопатии под воздействием комплексного лечения с применением гипербарической оксигенации // *Анестезиол. и реаниматол.*, 2002. — № 2. — С. 17-20.
3. **Лисянский Н.И.** Иммунная система головного мозга. За и против // *Матер. второй Росс. конф. «Нейроиммунология»*. — М., 2002. — С. 42-43.
4. **Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Мусселиус С.Г.** Детоксикационная терапия: Руководство. — СПб, 2000. — 196 с.
5. **Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С.** Физиогемотерапия острых отравлений. — М.: Медпрактика-М, 2002. — 200 с.
6. **Сыромятникова Е.Д. и др.** Показатели эндотоксикоза при отравлениях психотропными препаратами различной тяжести // *Клин. лаб. диаг.*, — 2004. — № 9. — С. 81.
7. **Ястребова Е.В., Здановская Л.К.** Иммунная резистентность организма пострадавших при острых отравлениях психотропными средствами и детоксикации с использованием методов физиогемотерапии // *Физиогемотерапия при острых экзо- и эндотоксикозах: Мат. научн.-практ. конф.* — М., 1991. — С. 32-37.
8. **Маткевич В.А., Петров С.И., Завадовский М.М.** Детоксикация желудочно-кишечного тракта при острых пероральных отравлениях // *В кн.: I Съезд токсикологов России*. — 17-20 ноября 1998 г. — С. 189.
9. **Лисовик Ж.А., Леженина Н.Ф., Ливанов А.С. и др.** Использование аналитических анализаторов в диагностике острых отравлений лекарственными и наркотическими средствами // *Токсикологический вестник*, 2005. — № 2. — С. 75-79.

10. Горячева Н.В., Булава Г.В., Ветошкин А.И. и др. Модификация определения циркулирующих иммунных комплексов различных величин в сыворотке крови человека // *Клин. и лабор. диагн.*, 1997. — № 5. — С. 77-79.

11. Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А. Альбуминовый флуоресцентный тест // *Сорбционные электрохи-*

мические и гравитационные методы в современной медицине: Тр. Всеросс. конф. — М.: Гэотар Медицина, 1999. — С. 38-39.

12. Лужников Е.А. *Клиническая токсикология.* — М.: Медицина, 1999. — 416 с.

Материал поступил в редакцию 11.04.08.

N.F.Lezhenina, Ye.A.Luzhnikov, T.V.Yermokhina, N.V.Borovkova, Zh.A.Lisovik, A.N.Yelkov

SIGNIFICANCE OF IMMUNOLOGICAL INDICATORS IN DIAGNOSIS OF TOXICO-HYPOXIC ENCEPHALOPATHY AT ACUTE POISONING BY SUBSTANCES OF NEUROTOXIC ACTION

N.V.Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medical Care, Moscow

Immunological indicators were investigated at acute poisonings by neurotoxic substances, particularly by psycho-pharmacological preparations (amitriptyline, carbamazepine, azaleptini) complicated by the development of toxico-hypoxic encephalopathy (THE). Their diagnostic importance was evaluated for determination of THE severity and for their inclusion in a detoxification complex of substrate anti-oxidant cytoflavin.

УДК [615.916:546.264]-036.11

Л.В.Кравченко, Н.В.Трусов, М.А.Ускова, И.В.Аксенов, Л.И.Авреньева, Г.В.Гусева, М.А.Васильева, А.В.Селифанов, В.А.Тутельян

ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА КАК МОДЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

ГУ НИИ питания РАМН, Москва

Однократное в/б введение крысам CCl_4 в дозе от 0,05–0,5 мл/кг приводило к быстрому развитию окислительного стресса, который характеризовался увеличением продуктов ПОЛ в плазме крови, снижением антиоксидантной емкости печени, подавлением активности антиоксидантных ферментов, выходом в цитозоль и в кровь органеллоспецифических ферментов, резким подавлением активности локализованных в микросомальной мембране ферментов. Обнаружено возрастание активности гемоксигеназы и уровня восстановленного глутатиона, находящихся в обратной корреляционной зависимости от степени выраженности токсического действия CCl_4 , что может рассматриваться как адаптивный ответ, который определяет способность клетки к выживанию в условиях окислительного стресса.

Ключевые слова: окислительный стресс, четыреххлористый углерод, ПОЛ.

Введение. Четыреххлористый углерод (CCl_4) широко используется в экспериментальной токсикологии для изучения таких проявлений гепатотоксичности, как жировая дегенерация, фиброз, апоптоз, канцерогенез. Установлено, что токсическое действие CCl_4 связано в первую очередь с прооксидантным действием образующихся в процессе его метаболизма свободных радикалов — трихлорметильного CCl_3^* и высокореактивного трихлорметилпероксильного CCl_3OO^* [16, 31]. Полагают, что в метаболизме CCl_4 принимают участие ряд изоформ цитохрома P-450, но главная роль принадлежит CYP2E1. Результа-

ты исследований [15, 33] показали, что подавление активности и экспрессии белка CYP2E1 приводит к существенному ослаблению токсического действия CCl_4 .

Взаимодействие образующихся радикалов CCl_4 с ПНЖК фосфолипидов мембран инициируют перекисное окисление липидов (ПОЛ) с последующим развитием цепной реакции свободнорадикального окисления, что приводит к глубоким нарушениям функциональных свойств мембран — подавлению активности мембраносвязанных ферментов, выходу цитозольных ферментов в кровь, декомпартмен-

тализации кальция и, в конечном итоге — к апоптозу и некрозу гепатоцитов [25, 31]. Индуцированный CCl_4 окислительный стресс усугубляется подавлением активности антиоксидантных ферментов и усилением расхода и снижением содержания в клетке таких приоритетных антиоксидантов как α -токоферол и восстановленная форма убихинона [14]. Подтверждением роли окислительного стресса в механизме гепатотоксического действия CCl_4 являются данные о защитном действии антиоксидантов при интоксикации CCl_4 [4, 35]. В связи с этим в последние годы CCl_4 -индуцированный окислительный стресс находит применение в качестве одной из немногих моделей для оценки *in vivo* антиоксидантных свойств различных биологически активных соединений, повсеместно используемых как БАД к пище или как компоненты функциональной пищи.

Целью настоящей работы явилось изучение биохимических параметров, характеризующих окислительный стресс при остром гепатотоксическом действии CCl_4 .

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на 5-ти группах крыс-самцов Вистар (по 6 животных в каждой) с массой тела 150 г. Животным опытных групп вводили в/б однократно CCl_4 в дозе 0,05, 0,10, 0,25 и 0,50 мл/кг в виде 2,5, 5, 12,5 и 25% раствора в оливковом масле. Крысам контрольной группы вводили равное количество масла — 2 мл/кг.

Через 24 ч после введения CCl_4 в плазме крови определяли активность аланинаминотрансферазы (с использованием набора реактивов фирмы «Ляхема»), содержание МДА (малонового диальдегида) — продукта ПОЛ [19], общую антиоксидантную емкость (ОАЕ) в системе FRAP [6]. В гомогенате печени определяли содержание восстановленного (SH-) глутатиона [28] и одного из продуктов окисления ДНК — 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-oxodG), ис-

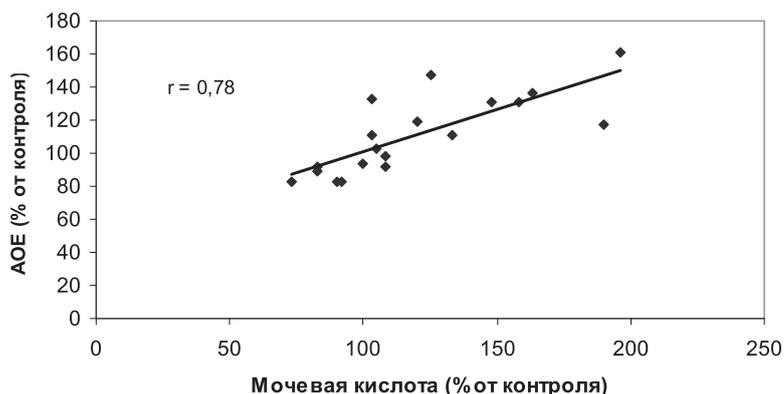


Рис. 1. Корреляция между уровнем мочевой кислоты и антиоксидантной емкостью (АОЕ) плазмы крови крыс через 24 ч после введения CCl_4 в дозах от 0,05 до 0,50 мл/кг

пользуя метод [10] с некоторыми модификациями. Во фракции цитозоля печени изучали активность антиоксидантных ферментов — каталазы [3], супероксиддисмутазы [21], глутатионтрансферазы с 1-хлор-2,4-динитробензолом в качестве субстрата [12], хинонредуктазы [5] и ОАЕ. В выделенных из гомогенатов печени микросомах определяли активность некоторых изоформ цитохрома P-450 — CYP1A1 (субстрат-маркер этоксирезорурфин), CYP1A2 (субстрат-маркер метоксирезорурфин), CYP3A (субстрат тестостерон) [9, 20, 30], а также активность UDP-глюкуронозилтрансферазы с п-нитрофенолом в качестве субстрата [8] и гемоксигеназы [18]. Кроме того, в гомогенатах и цитозоле определяли активность лизосомальных ферментов — арилсульфатаз, β -глюкуронидазы, катепсинов В и D [1].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Statgrafics и Microsoft Office Excel 2003.

Результаты и обсуждение. У животных опытных групп не наблюдали каких-либо видимых проявлений токсического действия CCl_4 . На вскрытии также не выявляли каких-либо макроскопических изменений внутренних органов, в том числе и печени, за исключением умеренного увеличения ее относительной массы — на 20–34% по сравнению с контрольными величинами.

Таблица 1

Активность органеллоспецифических ферментов, содержание МДА и антиоксидантная емкость (АОЕ) плазмы крови крыс через 24 ч после введения CCl_4 в дозе от 0,05 до 0,50 мл/кг

| Показатель | Группа животных, доза CCl_4 мл/кг | | | | |
|--------------------------------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | контрольная | 1-я опытная, 0,05 | 2-я опытная, 0,10 | 3-я опытная, 0,25 | 4-я опытная, 0,50 |
| Аланинаминотрансфераза, мкат/л | 0,57±0,06 | 0,95±0,18 | 1,32±0,15* | 2,03±0,34* | 2,71±0,44* |
| Арилсульфатаза, нмоль/мин·мл | 4,26±0,25 | 4,20±0,65 | 5,15±0,32 | 5,60±0,47* | 7,65±0,35* |
| МДА, нмоль/мл | 3,30±0,20 | 3,55±0,14 | 3,87±0,10* | 4,99±0,34* | 5,83±0,49* |
| АОЕ, mM Fe ²⁺ эквиваленты | 0,36±0,02 | 0,31±0,008* | 0,36±0,02 | 0,46±0,04* | 0,48±0,03* |

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 данные представлены в виде $M \pm m$, * — $p < 0,05$ по отношению к контролю

Показатели антиоксидантного статуса крыс через 24 ч после введения CCl_4 в дозе от 0,05 до 0,50 мл/кг

| Показатель | Группа животных, доза CCl_4 мл/кг | | | | |
|---|-------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | контрольная | 1-я опытная, 0,05 | 2-я опытная, 0,10 | 3-я опытная, 0,25 | 4-я опытная, 0,50 |
| АОЕ, мМ Fe^{2+} эквиваленты | 11,28±0,16 | 9,38±0,50 | 8,16±0,47* | 6,86±0,38* | 5,42±0,59 |
| Каталаза, ммоль/мин·мг белка | 0,82±0,07 | 0,66±0,07 | 0,58±0,08* | 0,52±0,03* | 0,50±0,04* |
| Супероксиддисмутаза, Ед/мг белка | 217±4 | 217±5 | 215±4 | 196±5* | 192±3* |
| Глутатионтрансфераза, мкмоль/мин·мг белка | 1,02±0,03 | 0,88±0,07 | 0,95±0,07 | 0,90±0,10 | 0,68±0,03* |
| Хинонредуктаза, мкмоль/мин·мг белка | 0,36±0,07 | 0,23±0,03 | 0,26±0,04 | 0,19±0,03* | 0,15±0,04* |
| Гемоксигеназа, пмоль/мин·мг белка | 8,52±1,80 | 18,05±4,86* | 14,60±1,09* | 13,28±0,98* | 12,15±1,22* |
| SH-Глутатион, мкмоль/г ткани | 6,16±0,38 | 11,90±0,58* | 10,00±,90* | 8,11±0,92 | 6,67±0,92 |
| 8-оксо-2 дезоксигуанозин, 8-odG/105 dG | 2,00±0,35 | 1,03±0,14* | 1,93±0,23 | 1,32±0,21 | 1,94±0,25 |

Активность аланинаминотрансферазы, которая обычно рассматривается в качестве показателя степени токсического поражения печени и повреждения плазматической мембраны, возрастала в плазме крови на 67, 132, 256 и 375%, соответственно у крыс 1–4-ой опытных групп (табл. 1). В плазме крови обнаружено также возрастание активности органеллоспецифического фермента – лизосомальной арилсульфатазы – на 19, 31 и 80% у животных, получавших CCl_4 в дозе 0,10, 0,25 и 0,50 мл/кг, соответственно. Это сопровождалось дозозависимым увеличе-

нием накопления МДА в плазме крови от 10 до 77%. ОАЕ плазмы крови достоверно снижалась у крыс 1-ой опытной группы, но с увеличением дозы CCl_4 возрастала на 28% у животных 3-ей, и на 33% – у крыс 4-ой опытной группы, что, вероятнее всего, отражает изменения уровня мочевой кислоты в крови. Как видно из рис. 1, имеется тесная корреляционная связь ($r = 0,78$) между изменением концентрации мочевой кислоты и изменением АОЕ плазмы крови. Стоит отметить, что до 60% ОАЕ плазмы крови, определяемой с помощью FRAP системы, приходится на долю мочевой кислоты [26].

Как видно из данных, представленных в табл. 2, однократное введение CCl_4 приводит к зависимому от дозы подавлению активности антиоксидантных ферментов. Так, при максимальной дозе CCl_4 активность каталазы была снижена на 40%, активность хинонредуктазы – более чем в два раза, глутатионтрансферазы – на 33% и супероксиддисмутазы – на 12%. Обнаруженное при этом снижение АОЕ цитозоля – на 17, 28, 39 и 52%, соответственно у крыс 1–4-ой опытных групп, находилось в прямой корреляционной зависимости от снижения активности в цитозоле антиоксидантных ферментов и, в первую очередь, активности каталазы и хинонредуктазы (рис. 2). Активность гемоксигеназы, в отличие от активности других антиоксидантных ферментов печени, достоверно возрастала, причем в зависимости обратной от дозы CCl_4 – на 112, 72, 58 и 43%, соответственно, у животных, получавших CCl_4 в дозе 0,05, 0,10, 0,25 и 0,50 мл/кг. Аналогичным образом изменялось и содержание в печени восстановленного глутатиона – возрастало на 93, 62, 32 и 8%, соответственно дозе CCl_4 .

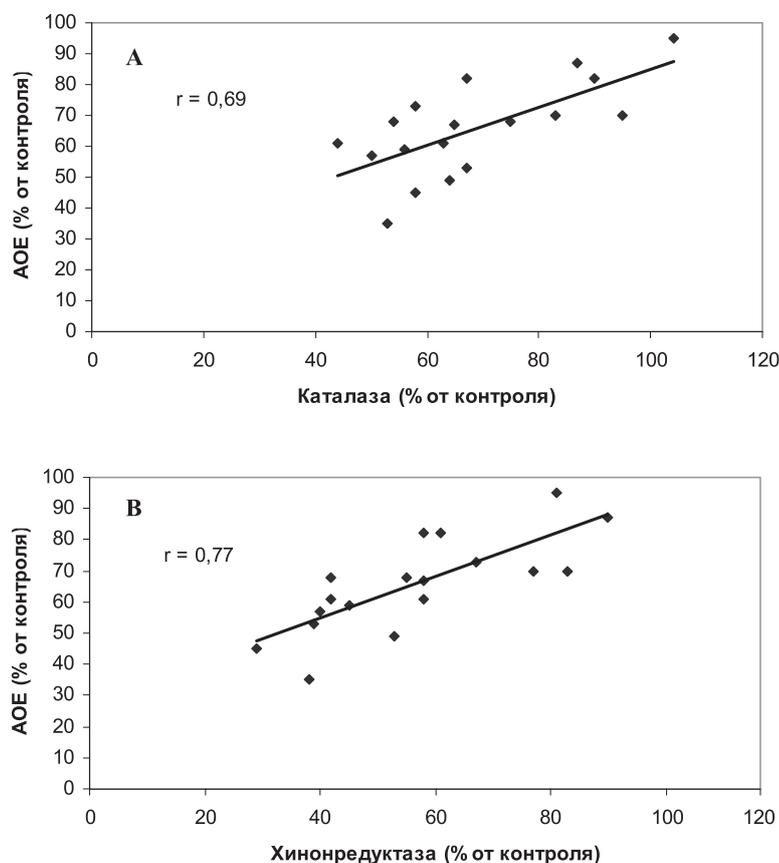


Рис. 2. Корреляция между активностью каталазы (А), хинонредуктазы (В) и антиоксидантной емкостью (АОЕ) печени крыс через 24 ч после введения CCl_4 в дозах от 0,05 до 0,50 мл/кг

Активность микросомальных ферментов печени крыс,
через 24 ч после введения CCl_4 в дозе от 0,05 до 0,50 мл/кг

| Показатель | Группа животных, доза CCl_4 мл/кг | | | | |
|---|-------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | контрольная | 1-я опытная, 0,05 | 2-я опытная, 0,10 | 3-я опытная, 0,25 | 4-я опытная, 0,50 |
| Этоксирезорурфиндеэтилаза (СУР 1А1), пмоль/мин·мг белка | 38,96±3,03 | 28,43±2,95* | 15,16±1,49* | 10,22±1,75* | 4,10±0,42* |
| Метоксирезорурфиндеэтилаза (СУР 1А2), пмоль/мин·мг белка | 161,3±34,7 | 86,6±28,7* | 77,2±12,2* | 20,0±7,8* | 19,2±4,9* |
| Тестостерон-6β-гидроксилаза (СУР 3А), нмоль/мин·мг белка | 1,59±0,11 | 1,08±0,17* | 0,95±0,17* | 0,57±0,01* | 0,34±0,08* |
| UDP-Глюкуронозилтрансфераза, нмоль/мин·мг белка | 39,0±0,38 | 31,0±2,2* | 27,7±2,2* | 17,7±2,9* | 9,8±0,9* |

В доступной литературе отсутствуют сведения о возможном окислительном повреждении клеточной ДНК при остром или хроническом токсическом действии CCl_4 . В настоящей работе (табл. 2) у крыс опытных групп не было обнаружено увеличения образования 8-oxodG – биомаркера окислительного повреждения ДНК [2]. Более того, у крыс 1-й опытной группы, получавших минимальную дозу CCl_4 , количество 8-oxodG в ДНК клеток печени достоверно снижалось.

Особо высокой чувствительностью к токсическому действию CCl_4 отличались микросомальные ферменты (табл. 3). Уже при минимальной дозе CCl_4 (0,05 мл/кг) активность СУР1А1, СУР1А2, СУР3А и UDP-глюкуронозилтрансферазы была снижена на 27, 46, 32 и 21%, соответственно, а при максимальной дозе CCl_4 (0,50 мл/кг) – на 90, 88, 80 и 75%.

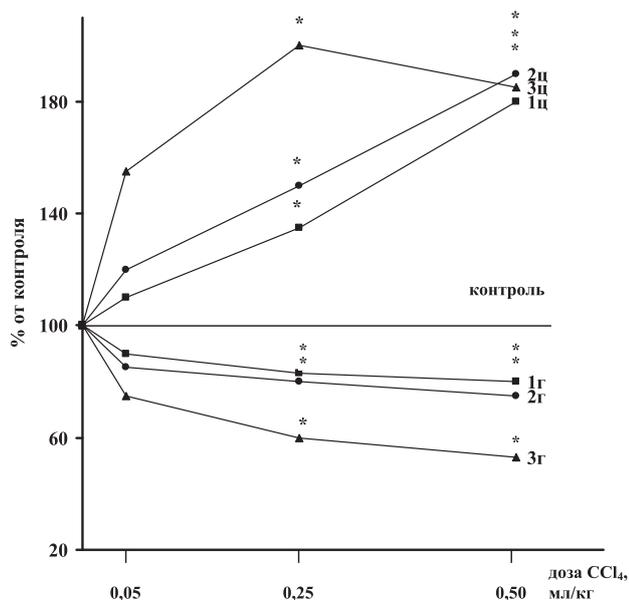


Рис. 3. Изменение активности арилсульфатазы (1), β-глюкуронидазы (2) и катепсина В (3) в гомогенате (г) и цитозоле (ц) печени крыс через 24 ч после введения CCl_4 в дозах 0,05, 0,25 и 0,50 мл/кг
* – $p < 0,05$

Усиление процессов ПОЛ рассматривается в качестве одной из основных причин дестабилизации лизосомальной мембраны. Результаты изучения влияния CCl_4 на активность ферментов лизосом в гомогенате печени (общая активность) и во фракции цитозоля печени (неседиментируемая активность) выявили зависимость от дозы CCl_4 снижение активности катепсина В > β-глюкуронидазы ≥ арилсульфатазы в гомогенате при одновременном возрастании их активности – катепсина В > β-глюкуронидазы ≥ арилсульфатазы, во фракции цитозоля (рис. 3). Активность катепсина D не изменялась достоверно, хотя сохранялась тенденция к ее снижению в гомогенате и возрастанию в цитозоле. Такое перераспределение активности ферментов как результат их «выхода» из лизосомы в цитоплазму клетки свидетельствует о нарушении стабильности лизосомальной мембраны.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что однократное введение CCl_4 приводит к быстрому развитию токсического поражения печени, маркером которого служит дозозависимое возрастание активности аланинаминотрансферазы в плазме крови, сопровождающееся значительными изменениями антиоксидантного статуса крыс. Это проявлялось как в увеличении продуктов ПОЛ в плазме крови, так и снижением активности антиоксидантных ферментов в цитозоле печени и уменьшением величины АОЕ цитозоля – интегрального показателя антиоксидантного потенциала печени. Как видно из рис. 2, имеется тесная корреляция между зависимыми от дозы CCl_4 изменениями АОЕ цитозоля и изменениями активности каталазы ($r = 0,69$) и хинонредуктазы ($r = 0,77$). Поскольку каталаза является антиоксидантным ферментом количественно преобладающим в печени и, учитывая установленную корреляционную зависимость между ее активностью и уровнем АОЕ, можно предположить, что вызванное CCl_4 уменьшение АОЕ цитозоля является результатом снижения прежде всего активности каталазы.

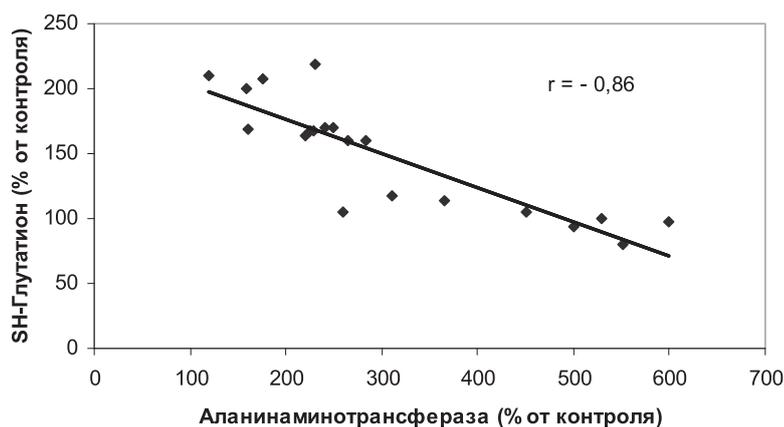


Рис. 4. Корреляция между активностью аланинаминотрансферазы в плазме крови и содержанием SH-глутатиона в печени крыс через 24 ч после введения CCl_4 в дозах от 0,05 до 0,50 мл/кг

Особо следует отметить обнаруженное снижение активности хинонредуктазы. Этот фермент II-ой фазы метаболизма ксенобиотиков играет значительную роль в системе антиоксидантной защиты — он осуществляет двухэлектронное восстановление хинонов в гидрохиноны, предотвращая их одноэлектронное восстановление в нестойкие семихиноны и последующую генерацию АФК. Кроме того, хинонредуктаза обеспечивает восстановление убихинона в убихинол, обладающий высокой антиоксидантной активностью [27]. В исследованиях [14] показано, что при введении крысам CCl_4 концентрация восстановленного убихинона (но не окисленного) снижалась в значительно большей степени, чем концентрация α -токоферола. Результаты настоящей работы позволяют предположить, что это связано не только с тем, что в условиях окислительного стресса среди липофильных антиоксидантов восстановленный убихинон расходуется в первую очередь, но и с уменьшением его образования в результате подавления активности хинонредуктазы.

Как следствие окислительного стресса можно расценивать обнаруженное возрастание в печени крыс активности гемоксигеназы и содержания восстановленного глутатиона. Микросомальная гемоксигеназа — основной фермент, обеспечивающий деградацию гема с образованием биливердина, который быстро переходит в билирубин. Тем самым он выполняет функцию антиоксидантного фермента — удаляет из клетки гем, который является потенциальным прооксидантом, и увеличивает количество билирубина, обладающего антиоксидантными свойствами. В ряде работ показано, что гемоксигеназа индуцируется при окислительном стрессе, в том числе вызванным CCl_4 [24, 32]. Установлено, что в небольших дозах CCl_4 усиливает экспрессию гена гемоксигеназы и гена ключевого фермента

синтеза глутатиона — γ -глутамилцистеинсинтетазы, и при этом наблюдается усиление транслокации в ядро редокс-чувствительного фактора транскрипции Nrf2, одного из важных регуляторов экспрессии стресс-активируемых генов, к числу которых относятся и гены упомянутых ферментов [24]. Усиление токсического действия CCl_4 обнаружено у мышей-нокаут по Nrf2 [34]. Это позволяет рассматривать индукцию активности гемоксигеназы и увеличение уровня восстановленного глутатиона как адаптивный ответ на действие CCl_4 , который, возможно, определяет способность клетки к выживанию в условиях окислительного стресса. Следует отметить при этом наличие тесной отрицательной корреляционной связи ($r = -0,86$) между уровнем восстановленного глутатиона и активностью аланинаминотрансферазы, показателя степени токсического поражения печени (рис. 4).

Преимущественное подавление синтеза белков микросомальной фракции печени и снижение активности микросомальных ферментов уже в первые часы после введения крысам CCl_4 показано в исследованиях разных лет [17, 25, 37]. Так, по данным [17] через 15 мин после введения CCl_4 в дозе 1 мл/кг содержание микросомального цитохрома P-450 и активность некоторых цитохром P-450 — зависимых монооксигеназ в печени были снижены более, чем в два раза и продолжали снижаться на более поздних сроках. При введении CCl_4 внутрь в дозе 0,5 мл/кг через 24 ч в печени крыс активность ряда изоформ цитохрома P-450, в том числе CYP1A2 и CYP3A, снижалась на 70–75% [37]. Эти данные полностью совпадают с результатами наших исследований (табл. 3). Предполагаются два возможных механизма снижения активности микросомальных цитохромов при воздействии CCl_4 — нарушение структурных и функциональных свойств мембран ЭР в результате инициированного CCl_3OO^* свободнорадикального окисления липидов мембран и/или прямое ковалентное связывание другого радикала CCl_4 — CCl_3^* , с гемом или с апопротеином цитохрома P-450.

Интерес представляют полученные данные о дозозависимом возрастании неседиментируемой активности ферментов лизосом, которая характеризует «хрупкость», т.е. прочность лизосомальной мембраны, отличающейся высокой чувствительностью к действию экзогенных и эндогенных липидных гидропероксидов. Как подчеркивает [23], резистентность клетки к окислительному стрессу в значительной степени определяется резистентностью лизосомальной мем-

браны к действию активных метаболитов кислорода. Нарушение стабильности лизосомальной мембраны и выход лизосомальных ферментов в цитозоль при токсическом действии CCl_4 наблюдали и в исследованиях [13, 36].

Заслуживают внимания исследования последних лет, свидетельствующие о возможном вовлечении лизосом в процессы апоптоза [7, 22, 29]. Действие ряда классических индукторов апоптоза сопровождается увеличением проницаемости лизосомальной мембраны, высвобождением в цитозоль лизосомальных ферментов, в том числе катепсинов, и индукцией зависящего от митохондрий апоптоза. Таким образом, дестабилизация/увеличение проницаемости лизосомальной мембраны, по мнению [11], может служить своего рода маркером катепсин-опосредованного апоптоза. В связи с этим следует отметить обнаруженное в настоящей работе существенное возрастание во фракции цитозоля печени активности лизосомальных ферментов, в том числе катепсинов, и результаты исследований [36], наблюдавших тесную связь между выходом лизосомальных ферментов в цитоплазму гепатоцитов и увеличением числа TUNEL – позитивных (находящихся в апоптозе) клеток на разных сроках после однократного в/б введения CCl_4 крысам.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что острое токсическое действие CCl_4 при его однократном в/б введении сопровождается изменением целого ряда параметров, характеризующих состояние окислительного стресса и может быть использовано в качестве модели для изучения *in vivo* эффективности антиоксидантов с различным механизмом действия.

Авторы выражают благодарность к.м.н. Сото Селада Хорхе за проведение анализа мочевой кислоты.

Список литературы

1. Дингл Дж. Лизосомы. Методы исследования. – М.: Мир, 1980. – 342 с.
2. Жанатаев А.К., Дурнев А.Д., Серединин С.Б. // Вестн. РАМН, 2002. – № 2. – С. 45-49.
3. Aebi H. // *Methods Enzymol.*, 1984. – V. 105. – P. 121-126.
4. Baek S.-H., Park M., Suh J.-H., Choi H.-S. // *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2008. – V. 72. – P. 1176-1182.
5. Benson A., Hunkeler M. J., Talalay P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980. – V. 77. – P. 5216-5220.
6. Benzie I.F., Strain J.J. // *Anal. Biochem.*, 1996. – V. 239. – P. 70-76.
7. Boya P., Andreau K., Poncet D. et al. // *J. Exp. Med.*, 2003. – V. 197. – P. 1323-1334.
8. Burchell B., Weatherill P. // *Methods Enzymol.*, 1981. – V. 77. – P. 169-176.
9. Burke M.D., Mayer R.T. // *Chem. Biol. Interact.*, 1983. – V. 45. – P. 243-258.
10. Cadenas S., Barja G., Poulsen H.E., Loft S. // *Carcinogenesis*, 1997. – V. 18. – P. 2373-2377.
11. Gyrd-Hansen M., Farkas T., Fehrenbacher N. et al. // *Mol. Cell. Biol.*, 2006. – V. 26. – P. 7880-7891.
12. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. // *J. Biol. Chem.*, 1974. – V. 249. – P. 7130-7139.
13. Hubich A.I., Bondar A.V., Kastsiuk T.U. et al. // *Hepatology Res.*, 2007. – V. 37. – P. 416-424.
14. Kucharska J., Ulichna O., Gvozdjakova A. et al. // *Physiol. Res.*, 2004. – V. 53. – P. 515-521.
15. Lee K.J., Choi J.H., Khanal T. et al. // *Toxicology*, 2008. – V. 248. – P. 18-24.
16. Manibusan M.K., Odin M., Eastmond D.A. // *J. Env. Sci. Health, Part C*, 2007. – V. 25. – P. 185-209.
17. Matsubara T., Mori S., Touchi A. et al. // *Japan J. Pharmacol.*, 1983. – V. 33. – P. 435-445.
18. McNally S.J., Ross J.A., James Garden O., Wigmore S.J. // *Anal. Biochem.*, 2004. – V. 332. – P. 398-400.
19. Mihara M., Uchiyama M. // *Anal. Biochem.*, 1978. – V. 86. – P. 271-278.
20. Nakajima M, Nakamura S, Tokudome S. et al. // *Drug Metab. Dispos.*, 1999. – V. 27. – P. 1381-1391.
21. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1972. – V. 46. – P. 849-854.
22. Paris C., Bertoglio J., Breard J. // *Apoptosis*, 2007. – Vol. 12. – P. 1257-1267.
23. Persson H. L., Kurz T., Eaton J.W., Brunk U.T. // *Biochem. J.*, 2005. – V. 389. – P. 877-884.
24. Randle L.E., Goldring C.E.P., Benson C.A. et al. // *Toxicology*, 2008. – V. 243. – P. 249-260.
25. Recknagel R.O. // *Pharmacol. Rev.*, 1967. – V. 19. – P. 145-208.
26. Rice-Evans C.A. // *Free Rad. Res.*, 2000. – V. 33. – P. S59-S66.
27. Ross D., Siegel D. // *Methods Enzymol.*, 2004. – V. 382. – P. 115-144.
28. Sedlak J., Lindsay R.H. // *Anal. Biochem.*, 1968. – V. 25. – P. 192-205.
29. Stoka V., Turk V., Turk B. // *Biol. Chem.*, 2007. – V. 388. – P. 555-560.
30. Umegaki K., Saito K., Kubota Y., et al. // *Jpn. J. Pharmacol.*, 2002. – V. 90. – № 4. – P. 345-351.
31. Weber L.W., Boll M., Stampfl A. // *Crit. Rev. Toxicol.*, 2003. – V. 33. – P. 105-136.
32. Wen T., Guan L., Zhang Y.-L., Zhao J.-Y. // *Toxicology*, 2006. – V. 228. – P. 51-57.
33. Wong F.W., Chan W.Y., Lee S.S. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1998. – V. 153. – P. 109-118.
34. Xu W., Hellerbrand C., Kohler U.A. et al. // *Lab. Invest.*, 2008. – V. 88. – P. 1068-1078.
35. Yang Y.-S., Ahn T.-H., Lee J.-C. et al. // *Food Chem. Toxicol.*, 2008. – V. 46. – P. 380-387.
36. Yasuda M., Okabe T., Itoh J. et al. // *J. Histochem. Cytochem.*, 2000. – V. 48. – P. 1331-1339.
37. Yokogawa K., Watanabe M., Takeshita H. et al. // *Int. J. Pharm.*, 2004. – V. 269. – P. 479-489.

Материал поступил в редакцию 24.10.08.

L.V.Kravchenko, N.V.Trusov, M.A.Uskova, I.V.Aksyonov, L.I.Avrenyeva, G.V.Guseva, M.A.Vasilyeva,
A.V.Selifanov, V.A.Tutelyan

**CHARACTERIZATION OF CARBON TETRACHLORIDE ACUTE TOXICITY
AS A MODEL OF OXIDATIVE STRESS**

Institute of Nutrition, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

A single intraperitoneal injection of CCl₄ to male Wistar rats at doses of 0.05 to 0.5 ml/kg led to a rapid development of oxidative stress characterized by an increased amount of lipid peroxidation products in blood plasma, decreased antioxidant capacity of liver, suppressed activity of antioxidant enzymes, release of organelles-specific enzymes to cytosol and blood, sharp suppression of microsomal membrane-localized enzymes. An increased hemoxygenase activity and SH glutathione level were found to be in inverse correlation with the degree of CCl₄-induced toxicity which can be considered as an adaptive response reflecting the ability of a cell to survive under oxidative stress conditions.

УДК 615.9:576.08

Л.Т.Базелюк, С.А.Искакова*

**ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕПАТОРЕНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ
У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЗАТРАВКЕ
ПАРАМИ ЭЛЕМЕНТНОЙ СЕРЫ**

*Национальный центр гигиены труда и профзаболеваний Минздрава
Республики Казахстан, Караганда*

На белых крысах изучали гепаторенальную систему при ингаляционной затравке парами элементной серы в сроки 15 дней, 1, 2 и 4 месяца при концентрациях 1,76 и 12,68 мг/м³. Цитоморфологическими методами обнаружили патологические процессы в гепатоцитах. В светлых гепатоцитах встречались мелкоканальцевая жировая дистрофия, наблюдается снижение количества темных клеток, повышение количества дегенерированных светлых клеток и нейтрофилов. Со стороны почечных канальцев наблюдаются деструктивные изменения в малых и больших светлых канальцевых клетках, у большинства этих клеток встречалась белковая дистрофия, в частности, при ингаляции в течение 1 месяца в концентрации 1,76 мг/м³.

Ключевые слова: пары серы, ингаляция, гепатоциты, светлые канальцевые клетки.

Введение. Развитие нефтегазовой отрасли промышленности Казахстана привело к накоплению на серных картах запасов элементной серы до 9 млн тонн и экологическому дисбалансу в западном регионе. Это связано со сложным составом нефти и газоконденсата в этих регионах. Так, газ Карашыганакского месторождения содержит 3,8 объемных процентов сероводорода, Тенгизского – более 12% [1].

Элементная сера является химически активным веществом и может взаимодействовать со всеми компонентами окружающей среды с образованием более токсичных метаболитов. Кроме этого, элементная сера сравнительно легко под воздействием высокой температуры окружающей среды испаряется с площадок хранения в виде аэрозоля или пара [2, 3].

По сравнению с аналогами изучаемый образец серы имеет ряд таких преимуществ как высокая степень чистоты (99,9–99,98%), отсутствие воды (0,2%) и сероводорода и равномерный гранулометрический состав, содержание золы (0,02–0,05%), органических веществ (0,01–0,06%) [4–8]. При проникновении токсиканта перорально в виде пара или аэрозоля восьмиатомная молекула серы проникает в организм и в первую очередь поражает гепаторенальную систему: печень и почки. При хроническом воздействии нефтепродуктов у рабочих наблюдались нарушения клубочковой фильтрации, азотемия, уменьшение почечного резерва [9].

Целью нашей работы явилось установление на экспериментальных животных действия серы на качественный и количественный состав клеток печени и почек.

Материалы и методы исследования. В данной работе использовали одну из товарных форм се-

* фрагмент диссертационной работы

ры с месторождения Тенгиз. Сера техническая газовая гранулированная – твердое вещество в виде однородных гранул желто-зеленого цвета размером от одного до пяти миллиметров.

Проведены исследования на беспородных крысах-самцах (массой 200–230 г), всего 90 животных, содержащихся в виварии при естественном световом режиме на стандартной диете со свободным доступом к воде. Животные были разделены на 9 групп: I-я группа – контрольная, II-я группа – подвергалась 15-дневной ингаляционной заправке аэрозолем элементарной серы в концентрации 1,76 мг/м³, III-я группа – подвергалась ингаляционной заправке в концентрации 12,68 мг/м³ в эти же сроки, IV и V-я группа – срок заправки 1 месяц и те же концентрации соответственно, VI и VII-я группа – 2 месяца и те же концентрации соответственно, VIII и IX-я группа 4 месяца и те же концентрации соответственно. Ингаляции аэрозолем элементарной серы производили в течение 4-х ч по 5 дней в неделю статическим методом в заправочных камерах Б.А.Курляндского, емкостью 200 литров. Пары элементарной серы получали методом песчаной бани по И.В.Саночкому [10]. ПДК серной пыли в воздухе рабочей зоны установлена на уровне 6 мг/м³ [4], отталкиваясь от этой цифры, была взята концентрация 12,68 мг/м³, как группа сравнения, при которой биохимические сдвиги отражают интоксикацию организма. Концентрация 1,76 мг/м³ ниже уровня действующей ПДК в воздухе рабочей зоны, однако, по мнению Л.П.Брилинского [2], ПДК в воздухе рабочей зоны долж-

на быть снижена до 2 мг/м³.

По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии методом мгновенной декапитуации в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Министерством высшего и среднего специального образования СССР № 742 от 13.11.84 [11].

С печени и почек делали мазки-отпечатки, которые высушивали при комнатной температуре. Мазки-отпечатки фиксировали в смеси Никифорова 10 мин, окрашивали гематоксилином и эозином. При микроскопировании считали 300 клеток с каждого препарата. Оценку значимости результатов проводили по критерию Стьюдента при постоянном уровне значимости ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. При 15-дневной ингаляции парами элементарной серы в концентрации 1,76 мг/м³ у животных II-ой группы в мазках-отпечатках печени отмечено повышение количества купферовских клеток на 75%, в мазках-отпечатках почек наблюдается повышение дегенерированных малых канальцевых клеток (ДМКК) и дегенерированных больших светлых канальцевых клеток (ДБСКК) в 3,9 раза и на 95%, соответственно, наблюдается снижение БСКК на 39% и повышение количества фибробластов на 78% по сравнению с контрольной группой животных (табл. 1 и 2).

При концентрации 12,68 мг/м³ в эти же сроки у III-ей группы животных наблюдали снижение количества темных клеток (ТК) на 52%, повы-

Таблица 1

Цитоморфологические показатели печени в (%) клеток у экспериментальных животных при ингаляционной заправке аэрозолем элементарной серы ($M \pm m$; $n = 90$)

| Группа животных, концентрация, срок | Гепатоциты | | | Нейтрофилы | Эозинофилы | Купферовские клетки |
|---|-------------|------------|------------|------------|------------|---------------------|
| | ТК | СК | ДСК | | | |
| I гр. Контроль, $n = 12$ | 39,10±3,50 | 47,70±3,70 | 6,40±1,10 | 4,40±0,80 | 1,20±0,60 | 1,20±0,20 |
| II гр. Концентрация 1,76 мг/м ³ , 15 дней, $n = 10$ | 32,0±2,88 | 54,9±3,42 | 7,0±1,01 | 4,00±0,90 | 0,0±0,00 | 2,10±0,93* |
| III гр. Концентрация 12,68 мг/м ³ , 15 дней, $n = 10$ | 25,69±1,95* | 54,04±4,04 | 9,74±1,73* | 7,28±1,37* | 0,0±0,00 | 3,25±0,57* |
| IV гр. Концентрация 1,76 мг/м ³ , 1 месяц, $n = 10$ | 21,46±1,87* | 55,57±3,65 | 8,54±1,48* | 8,27±1,69* | 0,0±0,00 | 6,16±0,71* |
| V гр. Концентрация 12,68 мг/м ³ , 1 месяц, $n = 10$ | 33,07±3,18 | 47,14±3,13 | 9,63±1,19* | 6,99±1,40* | 0,0±0,00 | 3,17±0,57* |
| VI гр. Концентрация 1,76 мг/м ³ , 2 месяца, $n = 10$ | 44,7±4,30 | 16,5±1,60* | 13,5±1,87* | 23,6±2,20* | 0,0±0,00 | 1,70±0,70* |
| VII гр. Концентрация 12,68 мг/м ³ , 2 месяца, $n = 9$ | 32,6±3,12 | 20,1±2,66* | 15,7±2,41* | 25,6±2,48* | 1,0±0,32 | 5,0±0,66* |
| VIII гр. Концентрация 1,76 мг/м ³ , 4 месяца, $n = 10$ | 30,0±2,90* | 50,1±3,65 | 6,0±1,6 | 10,0±1,36* | 0,0±0,00 | 4,0±0,60* |
| IX гр. Концентрация 12,68 мг/м ³ , 4 месяца, $n = 9$ | 29,5±2,27* | 45,5±2,28 | 6,0±0,86 | 13,7±1,76* | 0,0±0,00 | 4,5±0,57* |

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – достоверные изменения по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$)

шение дегенерированных светлых клеток (ДСК) и нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) на 52 и 65%, соответственно и клеток Купфера в 2,7 раза по сравнению с контрольной группой животных. В клетках почек нами отмечено повышение ДМКК и ДБСКК в 2,7 раза и на 27%, соответственно, и повышение количества НЛ на 42%, снижение количества БСКК на 29% (табл. 2).

В IV-ой группе при ингаляции парами серы в течение 1 месяца в концентрации 1,76 мг/м³ в гепатоцитах печени отмечено снижение количества ТК на 82%, что составило (25,69±1,95%), а в контроле (39,10±3,50%), повышение количества ДСК и НЛ на 33 и 88%, соответственно, и купферовских клеток в 5,1 раза (табл. 1). В клетках почек отмечено снижение количества МКК на 76%, что составило (18,80±1,73%), а в контроле (33,1±3,10%), повышение количества ДМКК, ДБСКК и ДНЛ на 70, 23% и 2 раза, соответственно, количество фибробластов повышено в 15 раз, что составило (9,14±1,23%), а в контроле (0,60±0,20%). В V-ой группе при заправке в концентрации 12,68 мг/м³, нами отмечено в клетках печени повышение количества ДСК, НЛ и купферовских клеток на 50, 59% и в 2,6 раза соответственно. В клетках почек наблюдается сни-

жение количества МКК на 43%, повышается количество ДМКК и фибробластов в 3 и 7,5 раз соответственно по сравнению с контрольной группой животных (табл. 1 и 2).

При двухмесячной ингаляции парами элементной серы в концентрации 1,76 мг/м³ в VI-ой группе экспериментальных животных обнаружено в гепатоцитах снижение количества нормальных СК (16,5±1,60%), что меньше в 2,9 раза, чем в контрольной группе животных. Количество ДСК и НЛ было повышено в 2,1 и 5,4 раза, соответственно, купферовские клетки были повышены на 42% по сравнению с контрольной группой. В клетках почек наблюдали при этой же дозе повышение количества МКК на 33%, ДМКК на 83%, ДБСКК на 82%, НЛ в 3,9 раза, ДНЛ в 6,9 раза и фибробластов в 2,7 раза, а количество БСКК было снижено и составило (15,8±1,90%), что в 3,2 раза ниже контрольных величин. При двухмесячной ингаляции в концентрации 12,68 мг/м³ в VII-ой группе в клетках печени отмечено снижение количества СК в 2,4 раза и НЛ в 5,8 раза, купферовские клетки также были повышены в 4,2 раза и составили (5,0±0,66%) по сравнению с контрольной группой. В клетках почек при той же концентрации

Таблица 2

Цитоморфологические показатели почек в (%) клеток у экспериментальных животных при ингаляционной заправке аэрозолем элементной серы (M±m; n = 90)

| Группа животных, концентрация, срок | МКК | ДМКК | БСКК | ДБСКК | НЛ | ДНЛ | Моноциты | Фибробласты |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|
| I гр. Контроль, n = 12 | 33,1±3,1 | 3,5±0,90 | 49,4±4,0 | 10,5±1,5 | 1,5±0,20 | 1,0±0,20 | 0,40±0,01 | 0,6±0,20 |
| II гр. Концентрация 1,76 мг/м ³ , 15 дней, n = 10 | 29,41± | 11,51±0,97* | 35,52±2,85* | 29,51±1,29* | 1,55±0,29 | 0,43±0,07 | 0,0±0,00 | 1,07±0,37* |
| III гр. Концентрация 12,68 мг/м ³ , 15 дней, n = 10 | 37,6±2,05 | 7,92±0,79* | 38,21±2,88* | 13,37±2,41 | 2,13±0,50* | 0,34±0,10 | 0,0±0,00 | 0,43±0,06 |
| IV гр. Концентрация 1,76 мг/м ³ , 1 месяц, n = 10 | 18,8±1,73* | 5,96±1,28* | 49,67±2,59 | 12,96±1,68* | 1,46±0,64 | 2,01±0,60* | 0,0±0,00 | 9,14±1,23* |
| V гр. Концентрация 12,68 мг/м ³ , 1 месяц, n = 10 | 23,19±2,23* | 10,79±1,94* | 47,5±2,60 | 12,03±2,48 | 0,86±0,32 | 1,13±0,26 | 0,0±0,00 | 4,5±0,79* |
| VI гр. Концентрация 1,76 мг/м ³ , 2 месяца, n = 10 | 44,0±2,27* | 6,4±0,72* | 15,8±1,90* | 19,07±2,40* | 5,8±1,10* | 6,9±1,22* | 0,43±0,09 | 1,6±0,40* |
| VII гр. Концентрация 12,68 мг/м ³ , 2 месяца, n = 9 | 43,2±3,43* | 9,5±1,6* | 16,3±1,7* | 23,4±2,35* | 3,5±0,90* | 2,2±0,37* | 0,80±0,10* | 1,10±0,32* |
| VIII гр. Концентрация 1,76 мг/м ³ , 4 месяца, n = 10 | 36,6±2,47 | 14,8±2,38* | 17,7±2,67* | 19,0±1,87* | 4,4±0,90* | 4,7±1,42* | 0,20±0,04* | 2,6±0,21* |
| IX гр. Концентрация 12,68 мг/м ³ , 4 месяца, n = 9 | 20,8±2,23* | 18,4±2,21* | 28,6±3,30* | 24,3±2,67* | 1,8±0,46* | 2,1±0,80* | 0,30±0,10* | 3,7±1,40* |

и сроках ингаляции отмечено: повышение МКК на 31%, ДМКК в 2,7 раза, снижение БСКК в 3 раза, повышение ДБСКК в 2,2 раза, НЛ в 2,3 раза, ДНЛ в 2,2 раза, моноцитов в 2 раза, фибробластов на 83% ($p < 0,05$).

При 4-х месячной ингаляции парами серы в концентрации $1,76 \text{ мг/м}^3$ в VIII-ой группе животных в гепатоцитах наблюдается снижение ТК (клеток запаса) на 30%, повышение НЛ в 2,3 раза и клеток Купфера в 3,3 раза. В клетках почек обнаружено повышение ДМКК в 4,2 раза, снижение БСКК в 2,8 раз, повышение ДБСКК на 81%, НЛ в 2,9 раз, ДНЛ в 4,7 раз, фибробластов в 4,3 раз и снижение моноцитов в 2 раза по сравнению с контрольной группой. При исследовании IX-ой группы животных, подвергшихся ингаляции парами серы в концентрации $12,68 \text{ мг/м}^3$, в эти же сроки в клетках печени отмечено снижение количества ТК на 32%, повышение НЛ в 3,1 раза и купферовских клеток в 3,8 раза ($p < 0,05$).

В клетках почек обнаружено снижение МКК на 59%, повышение ДМКК в 5,3 раза, снижение БСКК на 72%, повышение ДБСКК в 2,3 раза, НЛ на 20%, ДНЛ в 2,1 раза, фибробластов в 6,2 раза и снижение моноцитов на 33% по сравнению с контрольной группой (табл. 1 и 2).

Таким образом, результаты экспериментальных исследований выявили при действии паров элементарной серы формирование такого специфического клеточного механизма, как цитотоксическое действие. При изучении цитоморфологических показателей в клетках печени были обнаружены такие формы темных гепатоцитов (ТГ): полигональные, приближенные к округлой, ядро округлое, относительно цитоплазмы малых размеров, часто расположено эксцентрично. От 10–20% клеток печени имели два ядра, что следует рассматривать как проявление регенерации, свойственной нормальному органу (контрольная группа). При патологических процессах количество двуядерных клеток заметно увеличивается, цитоплазма окрашена неравномерно, чаще всего это связано с дистрофическими процессами. Во всех сроках эксперимента обнаружили повышение количества НЛ, что указывает на наличие воспалительного процесса. Кроме этого, обнаружили снижение количества ТГ, светлых гепатоцитов (СГ) и увеличение дегенерированных светлых гепатоцитов (ДСГ), структура их изменена, контуры нечеткие, расплывчатые, что свидетельствует о нарушениях различных стадий жизнедеятельности клеток. Повышение при всех сроках эксперимента ретикулярной стромы – клеток Купфера, обладающих фагоцитарной функцией, в основном зрелой формы, крупной генерации с удлинённой

цитоплазмой. Эти клетки отнесены к соединительно-тканым элементам (фибробластам). Полученные в настоящем исследовании данные показывают, что пары элементарной серы при всех сроках эксперимента повышают физиологическую регенерацию структур гепатоцитов печени и повышают резистентность организма к повреждающим агентам [12-15]. При начальных проявлениях дегенерации при всех сроках эксперимента, а особенно при месячном сроке в концентрации $1,76 \text{ мг/м}^3$, цитоплазма печеночных клеток приобретает гомогенную оксифильную окраску, хроматиновые нити в ядрах становятся более грубыми, между ними отчетливо выступает парахроматин в виде бесцветных участков. При пикнотических изменениях ядра печеночных клеток уменьшаются, теряют структуру, окрашиваются в темный цвет, ядрышки не просматриваются.

В почечных клеточных канальцах нами обнаружено почти во все сроки эксперимента снижение количества МКК, БСКК и повышение ДМК, ДБСКК, а также НЛ, ДНЛ и фибробластов. Это свидетельствует о функциональном истощении секреторной деятельности и расходовании структур клеток – цитоплазма просветляется, цитогранулы исчезают, митохондрии набухают, их кристы редуцируются. Молодые клетки, как и клетки в состоянии физиологической регенерации, представляют собой типичные темные клетки. В процессе дифференцировки и перехода клеток к активной жизнедеятельности плотность цитоплазмы снижается, количество цитогранул и органелл уменьшается. С определенного уровня истощения ресурсов клетка может переходить в состояние обновления внутриклеточных структур. Такая попеременная деятельность клеток является составной частью их жизненного цикла. По мере старения и преобладания процессов деструкции клетки теряют свою способность к регенерации ультраструктур. Это проявляется в первую очередь в изменении клеточных мембран, проницаемость которых для гидрофильных соединений резко повышается. Цитоплазма клеток просветляется, митохондрии набухают, что завершается разрушением и отторжением клетки.

Данные экспериментальных исследований при 15-дневных, 1, 2 и 4-х месячных затравках парами элементарной серы убедительно доказывают причину возникновения цитотоксического действия – вследствие продолжительного поступления серы в организм животных. В почках обнаружено нарушение секреторной функции почечных канальцев, из-за резкого снижения резистентности ДМКК и БСКК, что является прямым действием паров элементарной серы, так

как изменялись механизмы осморегуляции (повышение количества ДМКК).

Выводы. 1. Установлено, что при действии паров элементарной серы в течение месяца в концентрации 1,76 мг/м³ наблюдаются наиболее выраженные патологические процессы в печеночных гепатоцитах; в светлых гепатоцитах встречалась мелкокапельная жировая дистрофия, наблюдается снижение ТК (клетки запаса), отмечено повышение ДСК и НЛ, что свидетельствует о нарушении детоксикационных, защитных и барьерных функций печени.

2. Установлено нарушение секреторной функции почечных канальцев уже на ранних сроках ингаляции парами серы в течение месяца при концентрации 1,76 мг/м³, выраженное в деструктивных изменениях в МКК и БСКК, у большинства клеток отмечена белковая дистрофия.

Список литературы

1. Курмангалиев О.М. Эколого-гигиенические аспекты формирования патологии мочеполовой системы в нефтегазоконденсатных регионах Республики Казахстан // Автореф. дисс. д.м.н. — Алматы, 2008. — 49 с.

2. Брилинский Л.П. К вопросу оздоровления условий труда рабочих, занятых добычей и переработкой самородной серы // В кн.: Актуальные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены. — Львов, 1965. — С. 60-61.

3. Кузиев Р.С., Алексевич Я.И. Состояние здоровья рабочих, занятых добычей серы // Факторы внешней среды и их влияние на здоровье населения. — Киев, 1970. — Вып. 2. — С. 51-55.

4. Временные методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. — М., 1988. — 108 с.

5. Сангалов Ю.А., Дмитриев Ю.К., Маталинов В.И. и др. Газовая сера // Вестник Башкирско-

го университета, 2004. — № 2. — С. 31.

6. Менковский М.А. // В кн.: Природная сера. — М: Химия, 1972. — 240 с.

7. Менковский М.А., Яворский В.Т. // В кн.: Технология серы. — М: Химия, 1985. — 328 с.

8. Грунвальд В.Р. // В кн.: «Технология газовой серы». — М: Химия, 1992. — 272 с.

9. Саркулов М.Н., Курмангалиев О.М., Кисманова Г.Н. Распространенность некоторых заболеваний органов мочевыделительной системы у рабочих нефтегазодобывающих заводов // Актуальные проблемы урологии. — Сборник материалов III конгресса урологов Казахстана. — Алматы, 2000. — С. 54-56.

10. Саноцкий И.В. // В кн.: Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия). — М: Медицина, 1970. — С. 84-85.

11. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных. № 742 от 13.11.84. — М.: М-во высш. и ср. образов. СССР, 1984.

12. Никаноров А.А., Смагин Т.Н, Фролов Б.А. и др. Стрессорное повреждение клеток макрофагальной системы печени и его предупреждение адаптации к периодической гипоксии // Бюлл. экпер. биол., 1990. — № 8. — С. 140-141.

13. Секманова С.М., Бекетова Т.П. О функциональном значении темных и светлых клеток // Архив патологии, 1985. — № 4. — С. 57-64.

14. Калашикова М.М., Сээнэ Т.П., Смирнова О.В. Деструктивные и восстановительные процессы в печени крыс при интенсивной физической нагрузке // Бюлл. экпер. биол., 1989. — № 9. — С. 283-285.

15. Базелюк Л.Т., Мухаметжанова Р.А. Функционально-метаболические изменения клеток печени и почек при воздействии физических факторов (обзор) // Гигиена и санитария, 2003. — № 2. — С. 76-77.

Материал поступил в редакцию 16.06.08.

L.T.Bazelyuk, S.A.Iskakova

CYTOMORPHOLOGIC INDICATORS OF THE HEPATORENAL SYSTEM IN LABORATORY ANIMALS AT INHALATION POISONING BY ELEMENTAL SULFUR

National Center for Occupational Hygiene and Diseases, Ministry of Health of the Kazakhstan Republic, Karaganda

The hepatorenal system at inhalation poisoning by elemental sulfur was studied in laboratory animals at concentrations of 1.76 and 12.68 mg/m³ during 15 days, 1, 2 and 4 months. Using cytomorphologic investigation methods, the most expressive disturbances in liver and kidneys cells were found out such as: pathologic processes in liver hepacytes; microtubular fatty degeneration encountered in light hepatocytes; were observed a decreased amount of dark cells and an increased amount of degenerated light cells and neutrophils. As to the sectoral function of kidney tubules, destructive changes in small and large light tubular cells were observed; albuminoid degeneration encountered in most of the cells, in particular, at inhalation at a dose of 1.76 mg/m³, within a month.

С.М.Горбунов, В.С.Резник

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ У МЫШЕЙ НА ОСТРУЮ ТОКСИЧНОСТЬ НЕКОТОРЫХ АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫХ ВЕЩЕСТВ*Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова
Казанского научного центра РАН, Казань*

Обнаружен синергизм в отношении острой токсичности 1,3-бис[5(диэтил-о-нитробензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдигбромида (соединение 547), оксазила и прозерина при предварительном введении изопропилпирофосфорамид и диизопротилфторфосфата. Делается вывод о функциональной значимости бутирилхолинэстеразы и паттернов ацетилхолинэстеразы, недоступных действию четвертичных ониевых соединений, в реализации острой токсичности изученных антихолинэстеразных веществ.

Ключевые слова: ингибиторы ацетилхолинэстеразы, алкиламмониевые производные 6-метилурацила, острая токсичность, ингибирование бутирилхолинэстеразы.

Введение. В последние годы широко изучаются различные аспекты механизма действия нового класса ингибиторов ацетилхолинэстеразы (АХЭ; К.Ф.3.1.1.7) – алкиламмониевых производных 6-метилурацила [1, 2]. Биохимические особенности (аномалий) отмечены в ряду производных 6-метилурацила, содержащих тетраалкиламмониевые группы при N¹ и N³ атомах пиримидинового цикла, а именно: избирательная, прогрессирующая во времени, ингибирующая активность в отношении АХЭ ($k^0 = 7,6 \cdot 10^8 - 3,5 \cdot 10^9 \text{M}^{-1} \text{мин}^{-1}$) в 10000–100000 раз более высокая, чем в отношении бутирилхолинэстеразы (БХЭ; К.Ф. 3.1.1.8.2) необратимый тип ингибирования на препаратах АХЭ теплокровных и обратимый – на препаратах АХЭ холоднокровных. При этом наличие или отсутствие аномалий существенно зависит от структуры аммониевых и N-гетероциклических фрагментов молекул, а также от того, с каким из двух атомов азота урацилового цикла (N¹ или N³) связан бензидиэтилпентиламмониевый фрагмент [3]. В результате изучения эффектов соединения 547 на амплитудно-временные параметры миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) в *m. extensor digitorum longus*, *m. soleus* и *m. diaphragma* крысы установлено, что указанное соединение уже в наномолярных концентрациях вызывает признаки необратимого ингибирования синаптической АХЭ, увеличивая амплитуду и длительность МПКП [4]. Подобное действие обнаружено и в опытах на синапсах лягушки [5]. Кроме того, для некоторых соединений, например оксазила, характерно специфическое взаимодействие с «периферическим ани-

онным пунктом» (ПАП) ацетилхолинэстеразы, что представляет возможность дополнительного прироста в избирательности связывания с АХЭ [8], подобный эффект характерен и для соединения 547. Уникальной особенностью исследованных нами алкиламмониевых производных 6-метилурацила является то, что они оказывают миорелаксанный эффект в дозах, далеко отстоящих от летальных DE_{50}/DL_{50} , составляет более 100 в опытах на крысах и мышах. При этом, установлено, что синапсы локомоторных мышц имеют более высокую чувствительность к ингибированию АХЭ соединения 547 по сравнению с диафрагмой [6]. Это позволяет лучше понять природу «избирательной миорелаксации», феномена выявленного нами ранее. Мы предположили, что в феномене избирательной миорелаксации важную роль играют фармакодинамические особенности ингибирования как ацетилхолинэстеразы, так и бутирилхолинэстеразы (БХЭ) в участках действия локомоторных и дыхательных мышц. В связи с этим, представляется интересным изучить как влияет ингибирование БХЭ на острую токсичность соединения 547 в сравнении с карбаматами, ониевыми и ФОС ингибиторами АХЭ.

Материалы и методы исследования. Исследовали острую токсичность комбинаций антиацетилхолинэстеразных соединений с избирательным (изо-ОМПА – изопропил-пирофосфорамид) и неизбирательным (ДФФ – диизопротилфторфосфат) ингибиторами холинэстераз (ХЭ).

Использованы коммерческие препараты диизопротилфторфосфат (ДФФ, Sigma) как неспецифический модельный ингибитор холинэ-

Зависимость острой токсичности комбинации изо-ОМПА с соединением 547 от дозы на мышах

| Доза изо-ОМПА (мг/кг)* | DL ₅₀ , мкг/кг | КИТ** |
|------------------------|---------------------------|-------|
| 0 | 1000 (870 ÷ 1100) | - |
| 0,5 | 72 (44 ÷ 97) | 13,9 |
| 1,0 | 30 (24 ÷ 37) | 33,3 |
| 2,0 | 21 (18 ÷ 24) | 47,6 |
| 5,0 | 17 (13 ÷ 22) | 58,8 |
| 10,0 | 5,3 (3,8 ÷ 7,3) | 189 |
| 50,0 | 13 (10,4 ÷ 16,5) | 77 |

Примечание. Здесь и в табл. 2–5: * – раствор изо-ОМПА вводили внутривенно в объеме 0,1 мл/10 г массы за 2 ч до титрования токсичности соединения 547

** – КИТ – отношение DL₅₀ базового препарата, в частности, в данных опытах – соединения 547 к DL₅₀ комбинации (изо-ОМПА + соединение 547)

тераз, тетра-изопропилпирофосфорамид (изо-ОМПА, Sigma) – как селективный ингибитор БХЭ, антиАХЭ препараты – прозерин метилсульфат [N-мета-диметилкарбомоилоксифенил) триметиламмоний метилсульфат], эзерин, ГД-42 [О-этил-S(этилтиоэтил)метилфосфоната метилсульфат], оксазил [N,N'-бис-(2-диэтиламиноэтил)-оксамида-бис-(орто-хлорбензилхлорид)] и соединение 547 – 1,3-бис[5(диэтил-о-нитробензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдигибромид. Препарат вводили внутривенно в объеме 0,1 мл/10 г массы экспериментального животного.

Каждая доза (комбинация) исследована на 10 мелких лабораторных животных. Для определения острой токсичности – DL₅₀ брали не менее 5 доз (комбинаций).

Смертность регистрировали в течение 24 ч. В опыты брали половозрелых беспородных мышей, крыс, морских свинок, которых до и во время эксперимента содержали на стандартном рационе вивария в стандартных условиях. Эксперименты проводили с 9³⁰ до 11⁰⁰ утра. В экспериментальные группы животных отбирали по методу случайных выборок. Обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента, а также с помощью программы ToxCalc™ v. 5.0.23F (Tidepool Scientific Software; U.S. Environmental Protection Agency).

Результаты и обсуждение. В серии опытов на мышах изучали зависимость острой токсичности соединения 547 в зависимости от дозы изо-ОМПА (табл. 1). Показано, что избирательный ингибитор бутирилхолинэстеразы потенцирует токсичность соединения 547, при этом до-

за изо-ОМПА, дающая наибольшую потенциацию составляет 10 мг/кг, что составляет 1/12 от DL₅₀, и в дальнейших экспериментах будет использована эта доза. При увеличении дозы изо-ОМПА до 50 мг коэффициент изменения токсичности (КИТ) снижался – по видимому за счет вовлечения собственного токсичного действия в механизм острой токсичности комбинации.

Потенцирование токсичности соединения 547 наблюдается во всех исследованных временных интервалах, максимальные значения – в интервале от 1 до 6 ч (табл. 2). При одновременном введении и при суточном интервале КИТ в два раза меньше, что обусловлено, на наш взгляд, не полным ингибированием БХЭ.

Таблица 2

Влияние интервала между инъекцией изо-ОМПА и титрованием токсичности соединения 547 на острую токсичность комбинации у мышей

| Время от введения раствора изо-ОМПА до аппликации соединения 547 (час)* | DL ₅₀ , мкг/кг | КИТ |
|---|---------------------------|-----|
| 0 (в одном шприце) | 10,8 (7,8 ÷ 13,5) | 93 |
| 1 | 5,2 (3,1 ÷ 8,9) | 192 |
| 2 | 5,3 (3,8 ÷ 7,3) | 189 |
| 3 | 5,3 (3,3 ÷ 8,6) | 189 |
| 6 | 5,9 (3,9 ÷ 9,3) | 169 |
| 24 | 12,0 (8,7 ÷ 15,9) | 83 |

Избирательное ингибирование БХЭ не приводило к существенному изменению КИТ комбинаций с карбаматными и фосфорорганическими ингибиторами ХЭ, но давало эффект синергизма как с соединением 547, так и с оксази-

Таблица 5

Влияние интервала времени между инъекцией ДФФ и титрованием токсичности соединения 547 на летальность комбинации у мышей

| Время от введения ДФФ до аппликации соединения 547, час [#] | DL ₅₀ , мкг/кг | КИТ |
|--|---------------------------|------|
| 0 (в одном шприце) | 6,4 (4,4÷9,5) | 255 |
| 0,25 | 5,5 (3,4÷9,0) | 297 |
| 0,5 | 9,6 (5,8÷16) | 170 |
| 1,0 | 7,4 (4,5÷12) | 221 |
| 2,0 | 5,8 (3,7÷9,2) | 280 |
| 4,0 | 8,8 (7,2÷10,6) | 186 |
| 24 | 12,4 (9,9÷15,5) | 132 |
| 72 | 21,3 (15,9÷28,5) | 77 |
| 168 | 1420 (1030÷1950) | 1,15 |

[#] – ДФФ вводили мышам внутривенно в дозе 1,8 мг/кг

лом, являющимся также ониевым антихолинэстеразным препаратом (табл. 3). Таким образом, можно предполагать наличие общих механизмов реализации острых токсических эффектов оксазила и аликиламмониевых производных 6-метилурацила, связанных с особенностями ингибирования холинэстераз в критичных участках действия. Аддитивный эффект комбинации изо-ОМПА с прозеринном и ГД-42 на острую токсичность связан, по нашему мнению, с избирательным действием этих соединений в отношении АХЭ, и незначительным влиянием на БХЭ. Эзерин и ДФФ – являются неизбирательными ингибиторами ХЭ в организме экспериментальных животных, в связи с чем, не показали изменения острой токсичности. Примечательно, что все четвертичные аммониевые соли (прозерин, оксазил и соединение 547) повышали свою токсичность при предварительном ингибировании БХЭ.

Таблица 3

Острая токсичность различных антихолинэстеразных агентов у мышей при предварительном введении изо-ОМПА

| Соединение | DL ₅₀ , мг/кг | DL ₅₀ на фоне изо-ОМПА, мг/кг* | КИТ | Достоверность различий (P) |
|----------------|--------------------------|---|-----|----------------------------|
| Прозерин | 0,51 | 0,12 | 4,3 | < 0,01 |
| Эзерин | 0,52 | 0,39 | 1,3 | > 0,05 |
| ГД-42 | 0,086 | 0,0163 | 5,3 | < 0,01 |
| ДФФ | 3,6 | 3,6 | 1,0 | > 0,5 |
| Оксазил | 6,0 | 0,042 | 143 | < 0,001 |
| Соединение 547 | 1,0 | 0,0052 | 192 | < 0,001 |

Следующие эксперименты были проведены с неизбирательным ингибитором холинэстераз – ДФФ, фосфорилирующим как АХЭ, так и БХЭ.

Проведено титрование токсичности комбинации с соединением 547 в широком ранге концентраций (табл. 4).

Таблица 4

Влияние дозы ДФФ на потенцирование острой токсичности его комбинации с соединением 547 у мышей

| Доза ДФФ, мг/кг [#] | DL ₅₀ , мкг/кг | КИТ |
|------------------------------|---------------------------|-------|
| 0 | 1000 (870÷1100) | - |
| 0,45 | 290 (200÷420) | 5,6 |
| 0,6 | 44 (34÷59) | 37,1 |
| 1,2 | 13 (9,1÷19) | 125,5 |
| 1,8 | 9,6 (5,8÷16) | 170 |
| 2,5 | 38 (25÷57) | 43 |

[#] – ДФФ вводили мышам внутривенно за 30 мин до титрования токсичности соединения 547

Во всех исследованных дозах ДФФ потенцировал токсичность соединения 547, максимальное потенцирование наблюдалось в дозе 1,8 мг/кг, что составляет примерно 1/3 DL₅₀ (эта доза ДФФ – не вызывает смертности у мышей, при наблюдении в течение 24 ч), меньший эффект, наблюдаемый при дозе ДФФ 2,5 мг/кг, объясняется большим вкладом в летальность этого ингибитора.

Максимальное потенцирование острой токсичности соединения 547 наблюдалось в интервале до 4 часов, с последующим ослаблением действия к 3-м суткам и отсутствием эффекта – при интервале 7 суток (табл. 5). Потенцирование токсичности соединения 547 в данном случае на 45–55% большее, чем при использовании избирательного ингибитора.

Роль АХЭ в синаптической передаче хорошо изучена и четко установлена, в то же время мало известно о физиологической роли БХЭ. Известно, что аддитивный эффект наблюдается при действии соединений на общие участки действия однонаправлено, разнонаправленное действие при этом даст антагонизм и как следствие снижение суммарного эффекта. Синергизм предполагает наличие дополнительных мишеней, на которые не действует одно из соединений комбинации. Допуская, что как изо-ОМПА, так и ДФФ одинаково проникают в синапсы как локомоторных, так и дыхательных мышц и ингибируют БХЭ и ХЭ соответственно, и дают синергизм с соединением 547 (и оксазилом) можно предполагать участие дополнительных

мишеней действия, на которые не действует соединение 547.

Заключение. Данные, полученные нами, продемонстрировавшие синергизм в отношении острой токсичности как при действии избирательного (изо-ОМПА), так и неизбирательного ингибитора БХЭ (ДФФ) проливают свет на участие БХЭ как важного защитного механизма в функционировании нервно-мышечного синапса, который включается при ингибировании синаптической АХЭ. И этими мишенями являются холинэстеразы, которые резистентны к действию соединения 547. В то же время более выраженный синергизм, проявляемый комбинацией соединения 547 и ДФФ, позволяет предполагать наряду с важностью БХЭ, также и наличие паттернов АХЭ, недоступных действию соединения 547. Поскольку соединение 547 проявляет избирательность в отношении ингибирования АХЭ локомоторных мышц по сравнению с диафрагмой, то возможно ХЭ диафрагмы могут являться этими дополнительными мишенями, обеспечивающими синергизм токсического действия. Результаты подтверждаются исследованиями [7], показавшими, что на генетической линии мышей, лишенных АХЭ, спонтанная квантовая секреция медиатора мало изменяется при ингибировании БХЭ селективным ингибитором изо-ОМПА как у нормальных, так и у лишенных АХЭ мышей, а вызванная квантовая секреция значительно снижается. В то же время нельзя исключить и возможное дополнительное участие ингибирования ХЭ центральных синапсов в механизме реализации токсичности комбинаций оксазила и соединения 547 (оба соединения являются четвертичными солями и априори плохо проникают через ГЭБ) с изо-ОМПА.

Список литературы

1. Резник В.С., Аникиенко К.А., Курочкин В.К. и др. Новый класс ингибиторов холинэстераз: тет-

раалкиламмониевые производные 6-метилурацила и аллоксазина // Доклады РАН, 1998. — Т. 362. — № 1. — С. 68-70.

2. Аникиенко К.А., Бычихин Е.А., Курочкин В.К. и др. Новый класс ингибиторов холинэстераз — тетраалкиламмониевые производные 6-метилурацила: особенности взаимодействия с холинэстеразами разных групп животных // Там же, 2001. — Т. 376. — № 6. — С. 818-822.

3. Аникиенко К.А., Бычихин Е.А., Курочкин В.К. и др. Новый класс ингибиторов холинэстераз — тетраалкиламмониевые производные 6-метилурацила: особенности взаимодействия с холинэстеразами разных групп животных // Там же, 2001. — Т. 376. — № 6. — С. 818-822.

4. Ковязина И.В. и др. Особенности действия тетраалкиламмониевого производного 6-метилурацила на потенциалы концевой пластинки мышцы разного функционального типа // Там же, 2004. — Т. 399. — № 5. — С. 712-714.

5. Горшкова О.В. и др. Влияние тетраалкиламмониевого производного 6-метилурацила на амплитудно-временные параметры миниатюрных потенциалов концевой пластинки в нервно-мышечном синапсе лягушки // Бюлл. экспер биол. и медицины, 2001. — Т. 131. — № 5. — С. 527-531.

6. Петров К.А. Исследование механизма действия тетраалкиламмониевого производного 6-метилурацила в синапсах дыхательной и локомоторных мышц крысы. Дисс. канд. биол. наук. — Казань, 2006. — 116 с.

7. Girard E., Bernard V., Krejci E. et al. Butyrylcholinesterase and the control of synaptic responses in acetylcholinesterase knockout mice // Life Sciences, 2007. — V. 80. — P. 2380-2385.

8. Моралев С.М., Розенгарт Е.В. Современные представления о структуре и каталитических свойствах холинэстераз позвоночных и беспозвоночных (обзор) // Ж. эволюционной биохимии и физиологии, 1999. — Т. 35. — № 1. — С. 3-14.

Материал поступил в редакцию 19.06.08.

S.M.Gorbunov, V.S.Reznik

IMPACT OF INHIBITION OF BUTYRYLCHOLINESTERASE (BCHE) ON ACUTE TOXICITY OF CERTAIN ANTICHOLINESTERASE SUBSTANCES IN MICE

A.Ye. Arbuzov Institute for Organic and Physical Chemistry, Russian Academy of Sciences, Kazan

Synergism was found out in relation to acute toxicity of 1,3-bis[5(diethyl-o-nitrobenzyl-ammonio)pentyl]-6-methyluracilyldibromid (compound 547), okazil, prozerin at a preliminary administration of isopropylpyrophosphoroamide and diisopropylfluorophosphate. A conclusion was jumped to about functional significance of BChE and acetylcholinesterase patterns not subject to the exposure to quaternary onium compounds in the manifestation of acute toxicity of anticholinesterase substances under investigation.

УДК 616-006-092

Л.Н.Пылев¹, Л.А.Васильева¹, О.В.Смирнова¹, А.И.Везенцев², Е.А.Гудкова²

АКТИВНЫЕ РАДИКАЛЫ КИСЛОРОДА И ВОЛОКНИСТЫЙ (АСБЕСТОВЫЙ) КАНЦЕРОГЕНЕЗ

¹ГУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва²Белгородский государственный университет

Обсуждается роль продуцируемых макрофагами АКР (активные кислородные радикалы) в волокнистом (асбестовом) канцерогенезе. По гипотезе авторов АКР могут играть как положительную, так и отрицательную роль. Они могут убивать трансформированные клетки мезотелия и злокачественные мезотелиомные клетки (положительная роль), а также трансформировать мезотелиомные клетки (отрицательная роль).

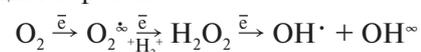
Ключевые слова: радикалы кислорода, мезотелий клетки, опухоль, асбест, волокна.

Проблема неблагоприятного действия асбеста на человека (прежде всего канцерогенного) и борьба против его использования в последние годы существенно обострилась и все больше приобретает политический характер. Поскольку добыча и применение амфиболовых асбестов уже давно запрещена практически во всех странах, речь идет исключительно о хризотиле. Между тем, если проанализировать результаты эпидемиологических исследований приходится констатировать, что достоверных убедительных данных, что именно хризотил представляет онкологическую опасность для населения нет [15]. Выявленное в некоторых из них увеличение риска может быть в ряде случаев связано с загрязнением хризотила амфиболами, например, тремолитом. Хотя содержание их обычно невелико, не учитывать этого, очевидно, нельзя. Это не означает, что хризотил и сам по себе не обладает определенными канцерогенными свойствами. Это многократно доказано, в частности, в экспериментах. Имеющий ряд особенностей волокнистый канцерогенез подчиняется общему для всех видов канцерогенеза биологическому закону «доза – время – эффект» [7]. Уменьшая действующую дозу и время экспозиции можно уменьшать «эффект», снижая риск возникновения опухоли или вывода его, как неоднократно говорил Л.М.Шабад, за пределы средней продолжительности жизни человека. Совершенно очевидно, что отсутствие убедительных эпидемиологических данных об опасности хризотила для населения (непрофессиональная экспозиция) объясняется еще и низкими уровнями его воздействия. Упомянутый биологический «закон» позволяет говорить не о запрещении хризотила, а о контролируемом его использовании.

В асбестосодержащих изделиях, прежде всего асбестоцементных (асбестоцементная промышленность использует до 90% добываемого хризотила)

хризотилево-волокна, подвергаясь кальцинизации, по нашей гипотезе [1] превращаются в новый «минерал» с новыми биологическими свойствами. Мутагенная активность в отличие от хризотила у таких волокон отсутствует [8], а канцерогенность снижена. Процесс замещения в кристаллической решетке хризотилового волокна Mg на Ca очевидно растянут во времени, затрагивая вначале «наружные» слои (рис. 1). Можно гипотетически предположить, что при эксплуатации асбестоцементных изделий под действием различных природных факторов кальцинизация будет продолжаться и «углубляться». Асбестоцементные волокна, возможно, будут становиться более биоинертными, т. е. менее опасными для человека. Сказанное полностью укладывается в существующую в отечественной и зарубежной литературе [4, 11] гипотезу о важной роли свойств поверхности минеральных волокон в их биологической активности.

В реализации канцерогенного потенциала волокна важную роль отводят активным кислородным радикалам (АКР), обладающим, как известно, токсическим, мутагенным и трансформирующим воздействием на клетку, в частности, вызывая в ней повреждение ДНК [2, 11, 12]. К активным радикалам относятся высоко реактивные молекулы или их фрагменты, имеющие на внешней орбитали один или несколько неспаренных электронов. Они могут нести положительный и отрицательный заряды, либо быть нейтральными. Процессы, приводящие к образованию активных радикалов кислорода в биологических субстратах, могут быть записаны следующим образом:



При этом образуются АКР – супероксид анион $O_2^{\cdot -}$ и гидроксил радикал – OH^{\cdot} .

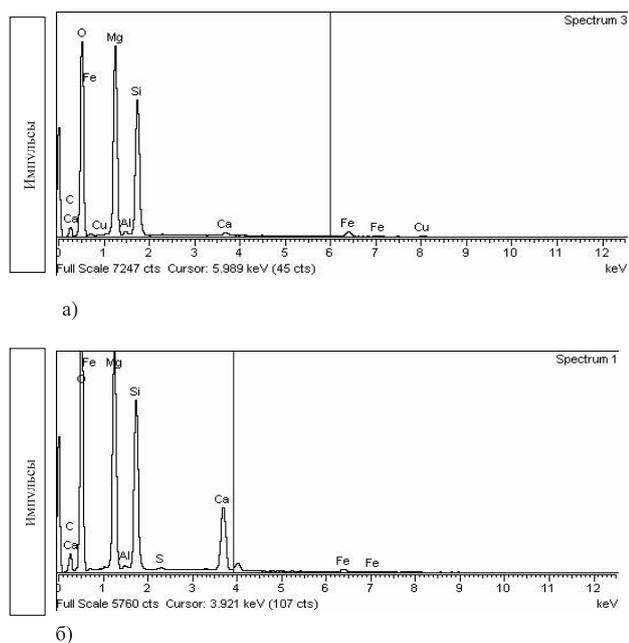


Рис. 1. Энергодисперсионный спектр волокон хризотил-асбеста

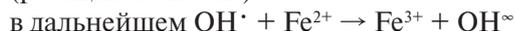
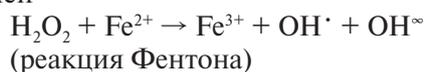
а) товарного

б) из асбестоцементной пыли

Содержание оксида кальция в товарном хризотил-асбесте составляет 0,8–0,9 мас.%, а в волокнах из асбестоцементной пыли достигает 10–15 мас.%

Катализатором процессов является Fe^{2+} , образующийся из Fe^{3+} при участии супероксид аниона $\text{Fe}^{3+} \xrightarrow{\text{O}_2^{\cdot -}} \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$.

Образование OH^{\cdot} идет также из гидроперекиси



Таким образом, в организме постоянно имеет место своеобразный «круговорот» образования и разрушения АКР. Жизненный их цикл составляет наносекунды (для OH^{\cdot} около 100 нсек), т. е. они, вероятно, могут воздействовать только на близлежащие клетки-мишени.

На волокне синтез АКР проходит на положительно и отрицательно электрически заряженных активных центрах, количество и сила которых, в зависимости от свойств поверхности может изменяться [4, 8]. Воздействие на поверхность волокна меняет также взаимодействие его с макрофагами (через рецепторы, интегрины, белки), клетками «первого уровня» защиты организма от ксенобиотиков и, вероятно, с нейтрофилами. При таком взаимодействии происходит активация этих клеток и, в частности, увеличение ими синтеза АКР. Следует отметить, что нейтрофилы более активны в этом отношении [3]. «Кальцинизация» волокна хризотила даже, вероятно, как в нашем образце [8], только поверхностных его

слоев, при контакте с макрофагами ведет к снижению их активности, т. е. способности синтезировать АКР по сравнению с чистым асбестом (рис. 2), естественно, при этом уменьшается и токсический эффект на клетки. Эти результаты сопоставимы, поскольку дисперсность и содержание волокон в образцах обычного и «кальцинизированного» хризотила примерно одинаковы [8]. Пыль цементного камня (не содержащая волокон), волокна из образца шифера, подвергнувшегося многократному замораживанию и оттаиванию (1,2% волокон), вызывали существенно меньшую хемилюминесценцию. Однако асбестоцементная пыль, содержащая примерно 3–5% волокон, обладала такой же активностью, что и нативный асбест (рис. 2). Отобранная при распиловке «свежего» шифера эта пыль обладает существенно большей чем у хризотила удельной поверхностью (соответственно 165,6 и 49 м²/г). Поскольку содержание в ней волокон мало, ответственны за это, очевидно, частицы цемента; удельная поверхность пыли измельченного цементного камня составляет 496 м²/г. Функции кислотности и суммарное количество активных центров на поверхности также различны (табл.).

Между кислотностью активного центра и энергетическим уровнем состояния поверхности существуют корреляционные связи. Кислотная сила в определенной степени является выражением сродства к электрону. Меньшие значения кислотности соответствуют большей кислотной силе, сродству к электрону и следовательно большей окислительной способности активных центров поверхности. По нашей гипотезе [8], чем выше последняя, тем, возможно, больше биологическая активность субстрата. В то же время значения функций кислотности, кислотной силы и окислительной способности активного центра не самостоятельные показатели. Необходимым является еще и оценка количества активных центров, что приведено на рис. 3. Оказалось, что при большой кислотной силе, т. е. сродству к электрону и высокой окислительной способности частиц цементного камня, количество активных центров на их поверхности очень мало (табл., рис. 3), а способность к синтезу АКР и токсическое действие на макрофаги низкие (рис. 2). В эксперименте с асбестоцементной пылью мы имеем противоположную картину: низкую кислотную силу, низкую окислительную способность активного центра, но большое их число, а в результате высокую токсичность и способность активировать макрофаги синтезировать АКР. Сопоставление с данными по хризотилу (табл., рис. 2 и 3) полностью подтверждают сказанное. Таким образом, полученные данные (рис. 2) вписываются в нашу ги-

Функция кислотности и количество активных центров поверхности изучаемых образцов

| Образец | Функция кислотности, H_0 (безразмерная величина) | Количество активных центров q_{pKa} , мг-экв/г |
|--------------------------------|---|--|
| Хризотил-асбест | 6,52 | 39,38 |
| Продукты морозной деструкции | 6,37 | 28,84 |
| Пыль от распиловки а/ц изделий | 9,16 | 58,43 |
| Цементный камень | 5,81 | 14,81 |
| Волокна из асбестоцемента | 6,17 | 32,69 |

потезу [8], но можно ли по этим показателям судить о канцерогенности. Хорошо известно [2], что способностью активировать макрофаги синтезировать АКР обладают также различные неволокнистые пыли, кремнезема, цеолитов и др., причем она в ряде случаев даже больше чем у пыли асбеста. Однако они не обладают канцерогенностью ни в опытах на животных, ни по данным эпидемиологических исследований. Асбестовый канцерогенез – это волокнистый канцерогенез. «Единицей» действия является волокно с присущими ему физико-химическими особенностями. Даже аналогичная по химическому составу хризотилу, но не волокнистая пыль змеевика не обладает канцерогенными свойствами [6].

Выявленные различия спектров хемилюминесценции (рис. 2), вызываемой обычным и «кальцинированным» хризотилом, представляют существенный интерес. С одной стороны, они показывают, что активация макрофагов и количество воздействующих на клетку-мишень (эпителий легких, мезотелий) АКР в единицу времени меньше при асбестоцементном волокне, чем «чистом» асбесте. С другой, поскольку очевидно, токсическое действие на макрофаги первого меньше, воздействие АКР растянуто во времени и суммарное их количество может быть

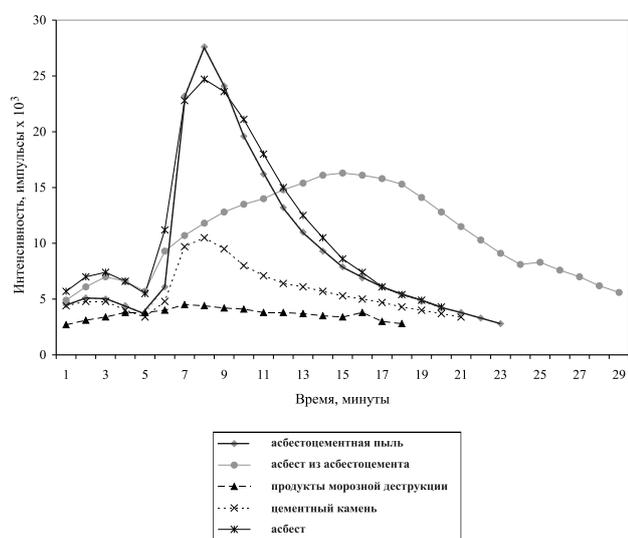


Рис. 2. Хемилюминесценция макрофагов

даже большим, чем при воздействии необработанного хризотила.

Каким образом это может отразиться на канцерогенном эффекте? Наши эксперименты на животных [10] показали, что растянутое во времени введение животным нативного асбеста малыми дозами ведет к усилению канцерогенеза. В этом случае речь идет о кратковременном повторном «сильном» воздействии на клетки-мишени и на сами макрофаги, что предполагает, однако, также и уменьшение числа последних. В опытах на культурах клеток [5, 13] макрофаги оказывали выраженный токсический эффект на клетки мезотелиом и трансформированные клетки мезотелия, но не на «нормальные» мезотелиальные клетки. Макрофаги замедляли также спонтанную трансформацию клеток мезотелия и «предотвращали» вызываемую асбестом [14]. В процессе асбестового (волокнистого) канцерогенеза, вероятно, происходит, с одной стороны, трансформация клеток-мишеней под действием, в частности, и АКР, а с другой, преимущественная гибель трансформированных клеток под действием тех же и, возможно, других факторов.

Все эти данные позволяют высказать гипотезу о «плюрипотентной» роли (функции) мак-

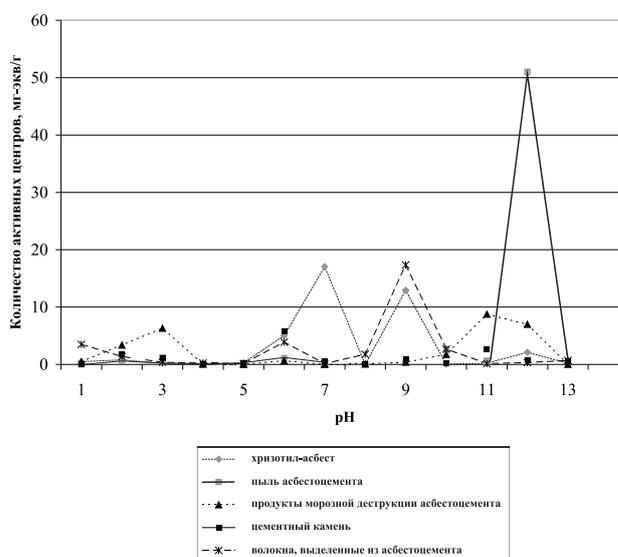


Рис. 3. Распределение активных центров на поверхности различных хризотил-содержащих материалов

рофагов в процессе асбестового (волоконистого) канцерогенеза, не считая элиминации волокон из организма. Генерируя, в частности, АКР они, с одной стороны, участвуют в трансформации клеток-мишеней (усиление канцерогенеза), а с другой, способствуют гибели т. е. «элиминации» трансформированных и злокачественных клеток (торможение канцерогенеза), причем как показано [13] последнее имеет дозозависимый эффект. Какой из этих процессов превалирует, первый – отрицательный или второй – положительный, вероятно, зависит от многих условий (на уровне организма, органа, клетки), которые нуждаются в дальнейшем изучении.

Подтверждением возможного «положительного эффекта» являются, в частности, результаты наших экспериментов на животных. Введение в систему асбестового канцерогенеза факторов, способствующих хемотаксису макрофагов, вызывало резкое его торможение или существенное ослабление [9]. Систематическое введение в брюшную полость крыс пептона вело к двукратному уменьшению у них числа вызванных асбестом мезотелиом брюшины. Оказалось, и это также укладывается в нашу гипотезу, что эффект не зависел от времени начала инъекций пептона (в течение всего эксперимента или через год после его начала). Вероятно, речь идет как о ранних, так и о поздних стадиях возникновения и развития опухолей.

Асбест усиливает синтез АКР и клетками мезотелия [5]. Показано и повреждающее их действие на ДНК и нарушение некоторых внутриклеточных сигнальных путей [12]. Синтез АКР клетками-мишенями, по нашему мнению, может иметь существенно большее количественное и качественное значение для опухолевой их трансформации при асбестовом канцерогенезе, чем «стороннее» воздействие «макрофагальных» АКР. Можно предположить, что макрофаги при асбестовом канцерогенезе больше играют роль «ликвидаторов», чем «индукторов».

Использование клеток мезотелия для изучения способности волокнистых пылей индуцировать синтез АКР более правомерно с позиций оценки их канцерогенного потенциала, чем опыты с макрофагами.

Заключение. Полученные данные и высказанные на их основе, но требующие дальнейшего подтверждения гипотезы, помимо теоретического интереса, имеют достаточно большую практическую важность. Они могут оказать положительное влияние на существующую в мире напряженность в отношении асбеста вообще и

снизить (если не снять вовсе) негативное отношение к асбестоцементной промышленности и ее продуктам, как представляющим «онкоопасность». Эти результаты позволяют также рассматривать возможности уменьшения биоагрессивности самого асбеста и опасности с ним контакта, хотя бы вначале с чисто теоретических и пилотных позиций.

Список литературы

1. **Везенцев А.И., Гудкова Е.А., Пылёв Л.Н. и др.** К вопросу об изменениях поверхностных и биологических свойств хризотила в асбестоцементе // *Строительные материалы*, 2008. – № 9. – С. 26-27.
2. **Дурнев А.Д., Сулова Т.Б., Черемисина З.П. и др.** Исследование мутагенного действия пыли природных цеолитов и хризотил-асбеста // *Экспер. онкология*, 1990. – Т. 12. – № 2. – С. 21-24.
3. **Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Розин А.Н. и др.** Действие грибов *Lentinus edodes* (Шиитаке) на рост подкожной перевитой аденокарциномы Эрлиха у мышей // *Росс. биотерапевтический ж.*, 2006. – Т. 5. – № 1. – С. 98-104.
4. **Пылёв Л.Н., Васильева Л.А., Кринари Г.А. и др.** Электрические свойства поверхности волокон и токсичность асбеста // *Гигиена и санитария*, 2002. – № 3. – С. 61-64.
5. **Пылёв Л.Н., Васильева Л.А., Стадникова Н.М. и др.** Макрофаги в асбестовом канцерогенезе // *Вопросы онкологии*, 2004. – Т. 50. – № 6. – С. 678-681.
6. **Пылёв Л.Н., Кулагина Т.Ф.** Морфологическая оценка опухолей плевры, вызванных у крыс Джэтыгаринским хризотил-асбестом и лизардитом // *Гигиена труда и профзабол.*, 1985. – № 3. – С. 27-29.
7. **Пылёв Л.Н., Курляндский Б.А., Невзорова Н.И. и др.** О возможности использования зависимости доза–время–эффект для прогнозирования ПДК канцерогенного аэрозоля (на примере асбеста) // *Гигиена труда и профзабол.*, 1990. – № 2. – С. 35-39.
8. **Пылёв Л.Н., Смирнова О.В., Васильева Л.А. и др.** Влияние модификации поверхности волокон хризотила на его биологическую активность // *Гигиена и санитария*, 2007. – № 2. – С. 77-80.
9. **Пылёв Л.Н., Смирнова О.В., Васильева Л.А.** Введение пептона тормозит асбестовый канцерогенез в брюшной полости крыс // *Гигиена и санитария*, 2009. – № 1.
10. **Пылёв Л.Н., Стадникова Н.М., Клеймёнова Е.В. и др.** Интермиттирующее действие асбестовой пыли и плевральный канцерогенез у крыс // *Гигиена и санитария*, 1994. – № 7. – С. 30-32.

11. Kane A.B., Boffetta P., Saracci R., Wilbourn J.D. (Eds.) *Mechanisms of fibre carcinogenesis* // International Agency for Research on Cancer Sci. Publ. – Lyon, 1996. – № 140.

12. Kopnin P.B., Kravchenko I.V., Furalyov V.A. et al. *Cell type-specific effect of asbestos on intracellular ROS levels, DNA oxidation and G1 cell checkpoints* // *Oncogene*, 2004. – V. 23. – P. 8834-8840.

13. Kravchenko I.V., Furalyov V.A., Vasilyeva L.A. et al. *Inhibition of asbestos-induced transformation of rat mesothelial cells in co-culture with rat macrophag-*

es // *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 2001. – V. 21. – P. 315-323.

14. Kravchenko I.V., Furalyov V.A., Pylev L.N. *Factors secreted by peritoneal macrophages are cytotoxic for transformed rats pleural mesothelium and mesothelioma cells* // *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 2003. – V. 1. – P. 207-214.

15. Yarborough C.M. *Chrysotile as a cause of mesothelioma: an assessment based on epidemiology* // *Critical Reviews in Toxicology*, 2006. – V. 36. – P. 165-187.

Материал поступил в редакцию 15.05.08.

L.N.Pylyov¹, L.A.Vasilyeva¹, O.V.Smirnova¹, A.I.Vezentsev², Ye.A.Gudkova²

REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) AND FIBER (ASBESTOS) CARCINOGENESIS

¹N.N. Blokhin Russian Oncology Scientific Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

²Belgorod State University

The role of macrophages-induced ROS in fiber asbestos carcinogenesis is discussed. According to authors' hypothesis, ROS could play both positive and negative roles in it. They may kill transformed and malignant mesothelial cells (positive role) and may transform mesothelial cells as well (negative role).

УДК 615.91.032.77

И.Г.Фролова*, В.Е.Жуков

ПАРАМЕТРЫ ТОКСИЧНОСТИ Vx В МОДИФИЦИРОВАННЫХ УСЛОВИЯХ НАКОЖНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

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

Цель работы – экспериментальное обоснование предельно допустимого уровня (ПДУ) загрязнения Vx рабочей поверхности средств индивидуальной защиты (СИЗ). На первом этапе было осуществлено изучение токсических свойств Vx при его однократном применении в моделируемых условиях воздействия. Опыты проводились на белых беспородных крысах-самцах. На основе выявленной зависимости «доза – эффект» определен ряд показателей токсичности вещества.

Ключевые слова: Vx, изолирующий костюм Л-1, острая токсичность, порог однократного общетоксического действия, порог однократного специфического действия.

Введение. Среди комплекса мероприятий, направленных на обеспечение безопасности работников предприятий по уничтожению химического оружия, важное место принадлежит использованию средств индивидуальной защиты (СИЗ) и, в частности, изолирующего костюма Л-1 [6, 16]. Известно, что эксплуатация костю-

ма Л-1 предусматривает его многократное использование после проведения соответствующих обеззараживающих мероприятий [3]. Однако на сегодняшний день не имеется критерия, который можно было бы использовать для оценки эффективности дегазации наружной поверхности костюма Л-1. Очевидно, что в качестве такого критерия может быть использован гигиенический норматив – предельно допустимый уровень (ПДУ) загрязнения СИЗ веществом Vx.

* фрагмент диссертационной работы

Все изложенное предопределило актуальность разработки нового вида гигиенического регламента – ПДУ загрязнения Vx наружной поверхности ткани костюма Л-1. Планирование экспериментальных исследований осуществлялось в соответствии со специальной «Программой...», предусматривавшей этапность исследований. Так, на первом этапе было осуществлено изучение токсических свойств Vx при его однократном применении [10, 14].

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлся О-изобутил-β-N-диэтиламиноэтилтиоловый эфир метилфосфоновой кислоты (Vx) и ткань УНКЛ-3, из которой изготавливается изолирующий защитный костюм Л-1. В настоящих исследованиях была разработана модифицированная методика по моделированию условий интоксикации, при которых осуществлялся контакт костюмной ткани, зараженной Vx, с кожными покровами животного. Вещество в виде спиртово-водных растворов (в соотношении от 1:20 до 1:40) соответствующей концентрации наносили на костюмную ткань на площади 16 см² и давали высохнуть растворителю (примерно в течение 13–15 мин). Затем неподвижно закрепляли исследуемую ткань на выстриженном участке спины животного с помощью специальных металлических пластин, изготовленных из нержавеющей стали. Время экспозиции составляло 4 ч. Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180–240 г. При формировании подопытных групп различия в массе тела животных не превышали 10%, а их количество составляло не менее 8 особей.

На предварительном этапе исследований с целью тестирования нового образца Vx были установлены параметры острой токсичности вещества при перкутанном поступлении. Для этого соединение испытывали в нескольких дозах: от 0,1 до 1,0 мг/кг.

Для установления параметров острой токсичности Vx в моделируемых условиях воздействия вещество исследовали в диапазоне доз от 0,34 до 1,0 мг/кг.

При определении $\text{Lim}_{\text{ac}}^{\text{integr}}$ использовали 4 группы животных, которых подвергали действию Vx в следующих дозах: 0,12, 0,06 и 0,024 мг/кг (I, II и III подопытные группы, соответственно); IV группа являлась контрольной. Тестирование подопытных особей проводили в динамике: непосредственно после окончания 4-часового контакта зараженной ткани с кожными покровами и через 3 суток. Оценку эффектив-

ности воздействия Vx изучали по комплексу физиологических и гематологических тестов [5, 8]. Гистологические исследования внутренних органов осуществляли по общепринятым методикам [7].

При установлении $\text{Lim}_{\text{ac}}^{\text{sp.}} (\text{DE}_{50})\text{Vx}$ наносили на ткань в интервале доз от 0,06 до 0,003 мг/кг. Активность энзима определяли по завершении 4-часовой экспозиции. В качестве специфического критерия эффективности воздействия вещества рассматривался 25% уровень угнетения АХЭ эритроцитов у половины животных, взятых в опыт (подобный методический прием предусматривает представление результатов в вероятностной форме) [12, 17].

Животных выводили из эксперимента методом декапитации. Результаты проведенных экспериментов подвергали статистической обработке с применением критериев, адекватных виду эмпирического распределения сравниваемых показателей [1, 13]. Выявление вредного действия проводили с использованием статистических критериев, а также с учетом данных морфологических исследований [9, 15].

Аналитический контроль над содержанием вещества Vx в смывах с исследуемой тканью и кожи осуществляли в соответствии с биохимической методикой [11].

Результаты и обсуждение. Анализ данных, полученных при установлении параметров острой токсичности Vx при обоих способах кожного применения (как при непосредственном нанесении на кожные покровы, так и в моделируемых условиях интоксикации), свидетельствовал о наличии зависимости «доза – эффект». Статистическая обработка цифрового материала позволила получить следующие токсикометрические параметры:

- при перкутанном воздействии: $\text{DL}_{50} = 0,54 \pm 0,04$ мг/кг (класс опасности I-ый согласно ГОСТ 12.1.007-76 [4]);

- в модифицированных условиях: $\text{DL}_{50} = 0,59 \pm 0,09$ мг/кг, $\text{DL}_{16} = 0,40$ мг/кг и $\text{DL}_{84} = 0,91$ мг/кг. С учетом остаточных количеств Vx, обнаруженных после окончания экспозиции (4 ч) на ткани и кожных покровах животных, величина DL_{50} подверглась корректировке и составила $0,55 \pm 0,09$ мг/кг или $(6,9 \pm 1,1) \cdot 10^{-3}$ мг/см².

Клиническая картина острого отравления была типичной для действия фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) с выраженным антихолинэстеразным механизмом действия. Местных проявлений действия вещества не обнаружено.

Статистически достоверные изменения показателей подопытных белых крыс по окончании 4-х часовой экспозиции в моделируемых условиях применения Vx

| Показатель, единица измерения | Группа животных | | |
|---------------------------------|-----------------|--------------|--------------|
| | контроль | I группа | II группа |
| СПП, v | 2,94±0,15 | 2,18±0,11* | 2,76±0,11 |
| Горизонтальная активность, мин. | 20,0±1,44 | 10,87±2,7** | 14,0±0,54** |
| Вертикальная активность, мин. | 6,75±0,75 | 1,33±0,62** | 4,13±0,52* |
| Суммарная активность, мин. | 26,63±0,93 | 12,83±2,7** | 20,93±0,72** |
| Эритроциты, 10 ¹² /л | 2,52±0,09 | 2,18±0,03* | 2,32±0,05 |
| Гемоглобин, г/л | 170,37±1,55 | 162,41±1,78* | 163,95±2,12* |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л | 12,73±0,10 | 13,17±0,23* | 12,36±0,17* |
| Нейтрофилы палочкоядерные, % | 1,00±0,37 | 2,60±0,68* | 1,50±0,16 |
| Лимфоциты, % | 73,5±1,46 | 70,40±1,94 | 69,18±2,95* |
| Моноциты, % | 2,83±0,24 | 4,20±1,16* | 3,67±0,21 |

Примечание. * – показатели, статистически значимо отличающиеся от контроля при $p \leq 0,05$; ** – показатели, статистически значимо отличающиеся от контроля при $p \leq 0,05$ и выходящие за пределы физиологических колебаний ($M \pm 2\sigma$)

Результаты исследования однократного действия Vx в моделируемых условиях воздействия представленные в табл., свидетельствуют о том, что применение Vx в дозе 0,12 мг/кг характеризовалось (через 4 ч) следующими проявлениями вредного действия: снижением горизонтальной, вертикальной и суммарной двигательной активности. При патоморфологических исследованиях у части подопытных крыс отмечались ишемизированные участки миокарда (на фоне полнокровия), отек межуточной ткани и единичные некрозы. В пучковой зоне коры надпочечников имели место такие структурные нарушения, как повышенное количество двуядерных клеток и гетерогенность адrenoцитов.

Необходимо отметить, что при других уровнях воздействия у подопытных крыс каких-либо морфоструктурных отклонений в сравнении с контролем обнаружено не было.

При повторном тестировании (через 3 суток) были зафиксированы статистически достоверные отклонения по двум тестам (разнонаправленные «сдвиги» количества палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов), которые, однако, можно отнести к критериально значимым, т. к. они сохранились в течение всего периода наблюдения.

При воздействии Vx на уровне 0,06 мг/кг по окончании экспозиции (через 4 ч) у подопытных животных наблюдалось снижение суммарной двигательной активности (за счет уменьше-

ния количества прохождений горизонтальных секторов) с выходом за границы физиологической нормы контроля. Перечисленные изменения являлись обратимыми, то есть не были обнаружены при повторном тестировании (через трое суток).

Применение Vx в наименьшей дозе – 0,024 мг/кг не сопровождалось статистически достоверными изменениями каких-либо показателей подопытных крыс, в сравнении с контрольными особями.

На основе выявленной зависимости «доза – эффект» представлялось целесообразным классифицировать дозу Vx = 0,06 мг/кг как близкой к пороговой – $\text{Lim}_{ac}^{integr.}$. С учетом остаточных количеств Vx на ткани УНКЛ-3 и коже животных по окончании 4-часовой экспозиции, полученная величина подверглась корректировке и составила 0,056 мг/кг или $7,0 \cdot 10^{-4}$ мг/см².

Изучение влияния вещества на активность АХЭ эритроцитов, проведенное с целью установления $\text{Lim}_{ac}^{sp.}$, позволила получить величину средней эффективной дозы (DE_{50}) Vx, составившую $0,0055 \pm 0,001$ мг/кг ($DE_{16} = 0,003$ мг/кг и $DE_{84} = 0,0096$ мг/кг). С учетом остаточных количеств Vx, $\text{Lim}_{ac}^{sp.} = 0,0051 \pm 0,001$ мг/кг или $(6,4 \pm 1,3) \cdot 10^{-5}$ мг/см².

Анализ результатов исследований свидетельствует о том, что наиболее чувствительными показателями оказались тесты, отражающие механизм интимного действия Vx (угнетение АХЭ

эритроцитов, поведенческие реакции подопытных животных). Наряду с этим, изменение лейкограммы, по-видимому, следует расценивать как неспецифические изменения, обусловленные токсическим стрессом [2].

Выводы. 1. В модифицированных условиях воздействия Vx была выявлена зависимость «доза-эффект», при этом были определены следующие параметры токсичности: $DL_{50} = 0,55 \pm 0,09$ мг/кг или $(6,9 \pm 1,1) \cdot 10^{-3}$ мг/см², $DL_{16} = 0,40$ мг/кг и $DL_{84} = 0,91$ мг/кг.

2. Установлено, что в модифицированных условиях накожного применения Vx величина Lim_{ac}^{integr} (0,056 мг/кг или $7,0 \cdot 10^{-4}$ мг/см²) на порядок превосходит значение Lim_{ac}^{sp} ($0,0051 \pm 0,001$ мг/кг или $(6,4 \pm 1,3) \cdot 10^{-5}$ мг/см²).

3. Полученные токсикометрические характеристики вещества (в моделируемых условиях накожного воздействия) были учтены при планировании дальнейших исследований и обосновании ПДУ загрязнения Vx наружной поверхности (ткани УНКЛ-3) изолирующего костюма Л-1.

Список литературы

1. **Беленький М.Л.** Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — Л.: Мед. литература, 1963. — 152 с.

2. **Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А.** Общие механизмы токсического действия. — Л.: Медицина, 1986. — 280 с.

3. **ГОСТ 12.4.064-84.** Костюмы изолирующие. Общие технические требования и методы испытания.

4. **ГОСТ 12.1.007-76.** ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

5. **Камышников В.С.** Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. Т. 1. — 2-е изд. — Мн.: Интерпрессервис, 2003. — 495 с.

6. **Макаров В.И.** Средства индивидуальной защиты для населения и работающих при уничтожении химического оружия. Под общ. ред. А.А.Каспарова и Ю.И.Мусийчука. // Серия «Медико-экологическая безопасность в регионах хранения и УХО», 1998. — Вып. 6. — 28 с.

7. **Меркулов Г.А.** Курс патогистологической техники. — Л.: Медицина, 1969. — 339 с.

8. **MP 2166-80** по использованию поведенческих реакций в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. Утв. 14.04.80. — Киев, 1980. — 46 с.

9. **Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны:** утв. Главным Государственным санитарным врачом СССР 04.04.80. Рег. № 2163-80. — М., 1980. — 20 с.

10. **МУ Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи (Методические указания):** утв. Зам. Главного государственного санитарного врача 01.11.79. Рег. № 2102-79. — М., 1980. — 23 с.

11. **МУК 4.1.68-2004** Методика выполнения измерений уровня загрязнения веществом Vx кожных покровов биохимическим методом. — М., 2004. — 34 с.

12. **Панюков А.Н.** О применении метода Хестрина для раздельного измерения активности холинэстераз // Вопросы медицинской химии, 1966. — Т. 12. Вып. 1. — С. 88-95.

13. **Плохинский Н.А.** Алгоритмы биометрии. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 150 с.

14. **Программа исследований по разработке предельно допустимого уровня загрязнения фосфорорганическими отравляющими веществами средств индивидуальной защиты персонала объектов по уничтожению химического оружия.** Утв. Главным государственным санитарным врачом по обслуживаемым организациям и обслуживаемым территориям ФМБА России 28 марта 2006г. В.В.Романовым. — М., 2006.

15. **Саноцкий И.В., Уланова И.П.** Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. — М.: Медицина, 1975. — 327 с.

16. **Федеральный закон Российской Федерации от 02 мая 1997 г. № 76-ФЗ «Об уничтожении химического оружия».**

17. **Hestrin S.** Determination of contents of acetylcholine in tissue // J. Biol. chem., 1949. — № 180. — P. 249-254.

Материал поступил в редакцию 04.09.08.

I.G.Frolova, V.Ye.Zhukov

Vx TOXICITY PARAMETERS UNDER MODIFIED DERMAL EXPOSURE CONDITIONS

Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology, Medico-biological Agency, Volgograd

The aim of the research was to experimentally substantiate the Maximum Permissible Level (MPL) of the Vx-contaminated surface of the personal protective equipment (PPE). At the first stage of the research Vx toxicity properties were studied at one-time application under simulated exposure conditions. The experiments were performed in outbred male white rats. On the basis of the found out dose-response relationship, a number of the substance toxicity indices were determined.

Г.А.Афанасьева*, Н.П.Чеснокова

МЕХАНИЗМЫ ИНДУКЦИИ И ПОТЕНЦИРОВАНИЯ ЦИТОПАТОГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ЭНДОТОКСИНА *YERSINIA PESTIS**ГОУ ВПО Саратовский государственный медицинский университет Росздрава*

Обзор данных литературы о структуре, эффектах, механизмах рецепции липополисахарида (ЛПС) *Y. pestis*. ЛПС рассматривается как токсический фактор патогенности чумного микроба, инициирующий развитие структурных, метаболических и функциональных нарушений на начальном этапе чумной инфекции и интоксикации. Эффекты ЛПС на высоте развития клинических проявлений патологии имеют цитокинопосредованный характер и усиливаются в условиях гипоксического синдрома и свободнорадикальной дестабилизации биологических мембран.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, эндотоксин, липополисахарид (ЛПС), гипоксия, липопероксидация.

Среди токсических веществ, потенциально опасных для организма человека и животных, особое место занимают токсины грамотрицательных бактерий, в том числе возбудителя чумы – *Yersinia pestis*.

Чума – природно-очаговая инфекционная болезнь, которая характеризуется значительной контагиозностью, тяжестью клинического течения, высокой летальностью и эпидемиологической опасностью. Достаточно широкое распространение в мире, в том числе и на территории России, действующих природных очагов чумы, значительная миграция населения, биологический терроризм создают неустойчивую эпидемическую обстановку и потенциальную угрозу развития заболевания среди населения земного шара [3, 13, 20, 22, 26, 42, 48].

Как известно, к числу высокопатогенных факторов чумного микроба относятся бактериальный эндотоксин, «мышинный» токсин, ферменты возбудителя (гиалуронидаза, нейраминидаза, фибринолизин и др.) [1, 16, 23, 32, 37].

Указанный факт затрудняет оценку характера биологических эффектов тех или иных факторов патогенности возбудителя чумы и, соответственно, разработку патогенетически обоснованных принципов терапии этого грозного заболевания. В связи с этим несомненна значимость исследований по проблемам патогенеза чумной инфекции и интоксикации, выяснению возможностей депотенцирования патогенных эффектов возбудителя и продуцируемых им токсинов [6, 8, 28, 37].

Эндотоксины грамотрицательных бактерий, в том числе эндотоксин чумного микроба, являются интенсивно изучаемыми со времени их от-

крытия токсическими веществами биологического происхождения. Интерес исследователей объясняется как осознанием важной роли эндотоксина в жизнедеятельности микро- и макроорганизмов, так и перспективами использования этого биополимера для диагностики и профилактики инфекционных заболеваний [2, 43, 48].

В настоящее время известно, что в составе эндотоксина обнаруживаются определенное количество белка или пептида, фрагменты нуклеиновых кислот, остатки фосфорной кислоты, фосфолипиды, неорганические ионы, однако, следует отметить, что биологически активной частью эндотоксина является липополисахарид (ЛПС). Последний обладает широким спектром биологических свойств, включающих, в частности, летальную токсичность и иммуномодулирующие эффекты, способность вызывать местный и генерализованный феномен Шварцмана, активировать продукцию белков острой фазы воспаления, опосредовать диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови [15, 39, 46].

Являясь одним из основных компонентов наружной оболочки грамотрицательных бактерий, ЛПС находится в тесном контакте с белками и обеспечивает стабильность мембраны, ее селективную проницаемость и межклеточные взаимодействия. ЛПС чумного микроба выделяется во внеклеточную среду в основном при разрушении бактериальных клеток. Существует также свободный эндотоксин, продуцируемый бактериями во внеклеточное пространство в сравнительно небольшом количестве [39, 46].

Препараты ЛПС в водной среде имеют бислойную надмолекулярную структуру и высокий аффинитет как к растворимыми компонентам

* фрагмент диссертационной работы

биологических жидкостей, так и к рецепторным аппаратам клеточных мембран, что, по-видимому, и обеспечивает высокую активность эндотоксина [29, 30, 39, 44–46].

Нативный ЛПС сильно агрегирован, поэтому трудно определить его молекулярную массу. Полная молекула ЛПС содержит гидрофобную часть (липид А), к которой через олигосахарид (кор или коровую часть) присоединяется полисахаридная цепь. Указанная структура ЛПС, так называемая S-форма, характерна для большинства ЛПС грамотрицательных микроорганизмов [19]. Напротив, ЛПС чумного микроба относится к R-хемотипу, как и ЛПС некоторых патогенных для человека микробов (*Neisseriaceae*, *Haemophilus*, *Bordetella*, *Bacteroides*), дающих колонии шероховатого типа, так как его молекула полностью лишена O-специфических полисахаридов [19, 43].

Гидрофобная часть ЛПС – липид А – у большинства изученных бактерий представляет собой фосфорилированный дисахарид, построенный из двух остатков глюкозамина с остатками высших жирных кислот, которые присоединяются по гидроксильным и аминогруппам. Эти остатки, находящиеся по одну сторону дисахаридной основы и ориентированные перпендикулярно внешней мембране, образуют компактный наружный слой, удерживаемый за счет гидрофобных взаимодействий с внутренним фосфолипидным слоем мембраны. Создаваемая таким образом микровязкость делает мембрану непроницаемой для гидрофобных молекул, в том числе антибиотиков [19, 49].

J.L.Hartley и соавт. выделили липид А в чумном ЛПС, который подобно липидным компонентам других ЛПС, обуславливает их токсичность, пирогенность, способность вызывать феномен Шварцмана, эндотоксиновую толерантность, не имеет специфических детерминант и перекрестно реагирует с антителами против большинства грамотрицательных бактерий [34].

При сравнении токсических свойств препаратов ЛПС, полученных из культур *Y. pestis* EV76 тремя методами (Westphal O. в модификации И.А.Беспаловой; Darveau R.et al.; Portnoy D. выяснено, что одним из существенных факторов, оказывающих влияние на токсичность препарата является температура инкубации чумных бактерий [15].

Липид А чумного микроба ковалентно связан с олигосахаридной частью, состоящей из 15 сахаров и образующей сог-регион. Кор оказывает существенное влияние на проявления биологических свойств липида А, поскольку увеличивает подвижность углеводородных цепей жирных кислот, облегчая изменение и стабилиза-

цию биоактивной конформации молекулы. Иммунохимическая специфичность молекулы ЛПС *Y. pestis* зависит от первичной структуры ее сахаридной части [19, 34, 49].

В литературе существует мнение о существовании «фазовых вариаций» ЛПС, свойственных различным этапам взаимодействия в системе «хозяин-паразит». При попадании бактерий чумы в организм теплокровного «хозяина», то есть при изменении, в частности, температурных условий, происходит модификация «программы считывания генома» и клетки бактерий приобретают иные черты фенотипа, позволяющие им выживать и размножаться в макроорганизме [1, 15].

Как оказалось, ЛПС образует в организме хозяина токсический комплекс с белковым «мышинным» токсином, обладающим избирательной токсичностью в отношении мышей и крыс. В экспериментах с модифицированными формами ЛПС выяснено, что при образовании физико-химических связей между «мышинным» токсином и коровой частью ЛПС изменяется конформация последней и повышается степень токсичности ЛПС. Влияние «мышинного» токсина на свойства ЛПС специфично, так как использование для этой цели других белков, например бычьего и человеческого сывороточных альбуминов, цитохрома С и мышинного γ -глобулина, не влияет на свойства ЛПС [1, 33].

Анализ данных литературы свидетельствует о множественности клеточных акцепторов чумного ЛПС и разнообразии посредников, участвующих в реализации системных эффектов эндотоксина. Первичными мишенями для эндотоксина являются моноциты, макрофаги, полиморфноядерные лейкоциты, клетки эндотелия и другие. Известно, что ЛПС запускает многочисленные цитокинсвязанные патологические процессы в организме, поскольку выступает в роли индуктора выработки провоспалительных цитокинов, в частности ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6 [7, 10, 14].

Рецепция эндотоксина может носить неспецифический характер и обеспечивается, в частности, сродством липида А к биологическим мембранам клеток. Однако на поверхности клеток имеются и специфические для эндотоксина белковые рецепторы CD14, CD18, CD54, Toll-рецепторы (Toll-like receptor, TLR) и другие. Одним из первых рецепторов для ЛПС был открыт CD11 β /CD18 или CR3-рецептор [39, 47]. В настоящее время CD14-рецептор рассматривается как ключевой ЛПС-распознающий комплекс плазматической мембраны моноцитов, макрофагов, гранулоцитов, инициирующий биологические эффекты ЛПС [25]. Эндотоксин связывается также с LBP (lipopolysaccharid binding

protein), который нейтрализует активность ЛПС как эндотоксина и обеспечивает эффективное распознавание ЛПС клеточными рецепторами CD14 и TLR-4 [40, 41].

Рецептор CD14 не имеет внутриклеточной части для проведения активационного сигнала и его функция сводится к связыванию ЛПС и формированию высокоаффинного рецепторного комплекса с TLR-4. Поэтому CD14-рецептор рассматривается как ключевой ЛПС-распознающий комплекс плазматической мембраны моноцитов, макрофагов, гранулоцитов, инициирующий биологические эффекты эндотоксина [31, 40, 41].

ЛПС, связанный с мембранным CD14, транспортируется к рецептору TLR-4-MD-2 с последующей олигомеризацией и запуском механизмов регуляции активности генов клетки-мишени. Последнее приводит к началу экспрессии генов цитокинов, NO-синтазы и других медиаторов и регуляторных молекул воспалительного процесса. В результате происходит активация ряда клеточных функций, обеспечивающих фагоцитоз, презентацию антигенов на мембране моноцитарно-макрофагальных элементов, усиление продукции NO, активных форм кислорода, ряда медиаторов воспаления, в частности группы провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-18, ФНО и т. д. [14, 31, 41].

В литературе существуют сведения о том, что CD14-рецепторы являются необходимыми при низкодозовой ЛПС-стимуляции макрофагов, которая имеет место в раннем периоде инфекционного процесса. При действии высоких доз ЛПС его воздействие осуществляется через CD11 β /CD18-рецепторы [43].

Следует отметить, что чумной эндотоксин оказывает патогенное действие на систему мононуклеарных фагоцитов, угнетая их поглотительную и секреторную активность. При этом наблюдаются изменения размеров и формы макрофагов, увеличивается объем цитоплазмы, появляются многочисленные вакуоли. ЛПС способен нейтрализовать действие катионных белков [1]. Г.И.Васильева с соавт. [15] отмечают более выраженный эффект ЛПС-препаратов в отношении макрофагов мышей, чем морских свинок.

В настоящее время очевидна возможность прямого цитопатогенного воздействия факторов патогенности возбудителя чумы на структурные элементы сосудистой стенки. Так известно, что ЛПС, «мышинный» токсин и ферменты чумного микроба воздействуют на компоненты ее межклеточного вещества, такие как гиалуроновая кислота и продукты ее деградации, гликопротеиды, гликолипиды, олигосахариды, аминокислоты и пептиды, фосфолипиды и др. [4, 21,

32, 38].

Мишенями для эндотоксина могут быть и эндотелиальные клетки. Так, под влиянием эндотоксина увеличивается проницаемость эндотелия, повышается экспрессия на его поверхности адгезивных молекул для полиморфноядерных лейкоцитов [50].

При патоморфологическом исследовании органов белых мышей при экспериментальной чумной ЛПС-интоксикации отмечено значительное повреждение внутренней стенки микрососудов почечных клубочков: отек и набухание эндотелиальных клеток, их вакуолизация и десквамация, что отражает реакцию эндотелия на действие эндотоксина. В срезах препаратов кишечника наблюдались признаки повышенной проницаемости сосудов, десквамация эндотелиоцитов, явления сладжа, агрегации и адгезии форменных элементов в микрососудах. В то же время в паренхиме печени обнаруживались выраженные изменения микроциркуляторного русла, характеризующиеся развитием ишемии, ишемического стаза, чередующихся с участками умеренного венозного полнокровия центральных вен, отека с расширением пространств Диссе. На фоне сохраненной балочной структуры долек печени появлялись признаки слабой пролиферации ретикулоэндотелиальных элементов [8].

Эндотоксин чумного микроба обеспечивает нарушение баланса биорегуляторных молекул, в частности про- и противовоспалительных цитокинов, а также простагландинов за счет активации циклоксигеназного и липоксигеназного путей метаболизма ненасыщенных жирных кислот. Изменения содержания простагландинов под влиянием ЛПС обуславливают тромбообразование, вазо- и бронходилатацию [24, 35]. Одновременно ЛПС обеспечивает активацию системы комплемента по классическому и альтернативному пути, запуская параллельно комплекс клеточно-опосредованных реакций.

Вслед за рецепцией и развитием прямых цитопатогенных эффектов токсинов и ферментов *Y. pestis* формируется совокупность типовых патологических процессов, в частности, гипоксии, воспаления, лихорадки и других, обуславливающих потенцирование эффектов возбудителя на молекулярно-клеточном, органном и системном уровнях.

Установлено, что гипоксия при чумной инфекции и интоксикации имеет сложный генез, включающий дыхательный, сосудистый, гемический и тканевой компоненты. Так, развитие циркуляторной гипоксии в динамике патологии обусловлено как прямым миокардиотоксическим эффектом факторов патогенности чум-

ного микроба, так и расстройствами коагуляционного потенциала крови, изменениями активности антикоагулянтной и фибринолитической систем, нарушениями вязкости крови. Причем, в динамике чумной инфекции и интоксикации возникают фазные изменения коагуляционного гемостаза. Гиперкоагуляционный сдвиг быстро сменяется гипокоагуляционными расстройствами, в основе которых лежит активация антикоагулянтной системы крови, развитие коагулопатии потребления и ДВС-синдрома. Показано прямое антитромбиновое действие ЛПС *Y. pestis* и его ингибирующее влияние на образование про- и тромбинового комплексов. Большие дозы ЛПС приводят к развитию тяжелых нарушений гемодинамики и эндотоксинового шока [16, 41].

В проведенных нами исследованиях обнаружено, что к числу ведущих патогенетических факторов расстройств регионарного кровотока и микроциркуляции при чумной интоксикации, индуцируемой ЛПС *Y. pestis*, относятся нарушение реологических свойств крови при различных скоростях сдвига, снижение индексов деформируемости и агрегации эритроцитов, соответствующие тяжести клинических проявлений патологии [11, 12].

Активация процессов липопероксидации (ЛПО), выявленная в динамике различных моделей чумной интоксикации, коррелирует со степенью выраженности аутоинтоксикации и снижением вязкостных свойств крови у экспериментальных животных при различных скоростях сдвига в динамике чумной ЛПС-интоксикации [9, 11, 12, 37].

Гемическая гипоксия при чумной инфекции и интоксикации обусловлена способностью различных ферментных факторов патогенности чумного микроба (гемолизина, аденилатциклазы и др.) вызывать дезорганизацию мембран эритроцитов [4,5]. Касаясь патогенеза тканевой гипоксии при указанной инфекционной патологии, необходимо отметить, что под влиянием «мышинного» токсина и основного соматического антигена происходит набухание митохондрий и нарушение сопряжения дыхания и окислительного фосфорилирования, транспорта электронов в ферментной цепи за счет торможения энзиматической активности дегидрогеназ [4]. В то же время, формирование дыхательной гипоксии при чумной инфекции и интоксикации может быть обусловлено нарушениями кровообращения в легочной ткани, развитием первичной и вторичной пневмонии, в тяжелых случаях — отека легких [17, 27, 28].

Как известно, гипоксия сопровождается формированием стереотипного комплекса структур-

ной и функциональной дезорганизации мембран клеток и субклеточных структур в результате образования высокоректогенных активных форм кислорода, обладающих способностью индуцировать процессы ЛПО [36].

В серии проведенных нами работ на животных различной видовой принадлежности выявлены дозозависимая активация процессов ЛПО в крови и гомогенатах различных органов и тканей, недостаточность антирадикальной защиты клеток различной морфофункциональной принадлежности [6, 8, 9, 36, 37]. Последние закономерно сочетаются с развитием аутоинтоксикации, дистрофических и некробиотических изменений в органах, с нарушением микроциркуляции на фоне повреждения структурных элементов сосудистой стенки и изменений реологических свойств крови [8, 18, 37].

Заключение. Гетерогенность структуры и локализации рецепторов ЛПС чумного микроба обеспечивает, с одной стороны, инициацию пусковых механизмов развития, а с другой стороны, полиморфизм клинических проявлений патологии.

На высоте развития чумной инфекции и интоксикации селективные цитопатогенные эффекты ЛПС *Y. pestis* потенцируются на клеточном, органном и системном уровнях за счет формирования типовых патологических реакций и процессов, определяющих тяжесть течения и исход эндотоксикоза.

Одним из значимых патогенетических факторов бактериального эндотоксикоза при чумной инфекции и интоксикации является формирование гипоксического синдрома, индуцирующего активацию процессов свободнорадикального окисления — эфферентного звена дезинтеграции биологических мембран клеток различной морфо-функциональной принадлежности при различных формах патологии инфекционной и неинфекционной природы.

Список литературы

1. Анисимов А.П. // Молекул. генетика, микробиол. и вирусол., 2002. — № 3. — С. 3-23.
2. Аниховская И.А., Опарина О.Н., Яковлева М.М. и др. // Ж. Физиология человека, 2006. — Т. 32. — № 2. — С. 87-91.
3. Арутюнов Ю.И. // Эпидемиол. и инфекц. болезни, 2004. — № 1. — С. 12-17.
4. Асеева Л.Е., Мишанькин М.Б., Гончаров Е.К. и др. // Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1995. — № 2. — С. 193-195.
5. Асеева Л.Е., Мишанькин М.Б., Рублев В.Д. и др. // Журн. микробиол., 1993. — № 6. — С. 10-11.
6. Афанасьева Г.А. Состояние процессов перекисного окисления липидов и принципы патогенетической коррекции вторичных метаболических расстройств в динамике чумной интоксикации.

Автореф. дис. ...канд. мед. наук. — Саратов, 1995.

7. **Афанасьева Г.А., Кутырев В.В.** // В сб.: Патолофизиология — современной медицине: Материалы межрегион. науч. конф. — Ижевск, 2007. — С. 77-78.

8. **Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Маслякова Г.Н. и др.** // Ж. «Успехи современного естествознания», 2007. — № 12 (приложение). — С. 130.

9. **Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П.** // Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека: Материалы 5 национальной науч.-практ. конф. с междунар. участием. — Смоленск, 2007. — С. 399-400.

10. **Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П.** // Ж. «Медицина критических состояний», 2008. — № 2. — С. 39-42.

11. **Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Будник И.А.** // Ж. «Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки», 2008. — № 1. — С. 3-8.

12. **Афанасьева Г.А.** // Докторантские чтения. Вып. 1 — Саратов, 2008. — С. 212-214.

13. **Брюханова Г.Д.** Актуальные аспекты эпидемиологии и микробиологии чумы в современных условиях. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Ставрополь, 2003.

14. **Васильева Г.И., Иванова И.А., Беспалова И.А. и др.** // Журн. микробиол., 2001. — № 4. — С. 36-41.

15. **Васильева Г.И., Беспалова И.А., Мишанькин М.Б. и др.** // Журн. Фундаментальные исследования, 2005. — № 2. — С. 25.

16. **Домарадский И.В.** Чума. — М.: Медицина, 1998.

17. **Заболотный Д.К.** Научные результаты экспедиции. Легочная чума в Маньчжурии в 1910–1911 гг. — Петроград, 1915. — Т. 1. — С. 6-11.

18. **Инфекционный процесс / Под ред. Н.П. Чесноковой.** — М.: Академия естествознания, 2006. — С. 37-56.

19. **Книрель Ю.А., Кочетков Н.К.** // Биохимия, 1993. — Т. 58. — Вып. 2. — С. 166-181.

20. **Кутырев В.В., Смирнова Н.И.** // Молекулярная генетика, микробиол. и вирусология, 2003. — № 1. — С. 6-14.

21. **Лихолед В.Г., Кулешова Н.В., Сергиева Н.В. и др.** // Журн. микробиол., 2007. — № 3. — С. 3-6.

22. **Марамович А.С., Косилко С.А., Воронова Г.А. и др.** // Проблемы особо опасных инфекций, 2007. — Вып. 93. — С. 38-43.

23. **Мишанькин М.Б.** Структурно-функциональная характеристика «мышинного» токсина чумного микроба. Автореф. дис. ...канд. мед. наук. — Ростов-на-Дону, 1997.

24. **Наумов А.В., Кузьмиченко И.А., Тараненко Т.М.** // Мед. паразитол. и паразитар. болезни, 1995. — № 4. — С. 17-22.

25. **Пермяков Н.К., Аниховская И.А., Лихолед Н.В. и др.** // Архив патологии, 1995. — № 2. — С. 4-7.

26. **Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Новиков Н.Л. и др.** // Проблемы особо опасных инфекций, 2007. — № 1 (93). — С. 11-16.

27. **Поляков А.Ю., Сухоруков В.П., Романов В.Е. и др.** // Вестник интенсивной терапии, 2004. — № 4. — С. 38-44.

28. **Романов В.Е., Васильев Н.Т., Шабалин Б.А. и др.** // Антибиотики и химиотерапия, 2001. — Т. 46. — № 4. — С. 16-18.

29. **Рябиченко Е.В., Веткова Л.Г., Бондаренко В.М.** // Журн. микробиол., 2004. — № 3. — С. 98-105.

30. **Сварваль А.В., Ценева Г.Я., Шендерович О.А.** // Журн. микробиол., 2006. — № 3. — С. 100-104.

31. **Симбирцев А.С., Громова А.Ю.** // Цитокины и воспаление, 2005. — Т. 4. — № 1. — С. 3-10.

32. **Соколова Е.П.** Механизмы активации токсических субстанций чумного микроба. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Ростов-на-Дону, 2002.

33. **Соколова Е.П., Марченков В.И., Демидова Г.В. и др.** // Биотехнология, 2001. — № 4. — С. 53-58.

34. **Федорова В.А., Девдариани З.Л.** // Молекул. генетика, микробиол. и вирусология, 1998. — № 3. — С. 22-26.

35. **Черкасова Т.Д., Шепелева Г.К., Венгров П.Р. и др.** // Журн. микробиол., 1989. — № 1. — С. 3-6.

36. **Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю.** Активация свободнорадикального окисления — эфферентное звено типовых патологических процессов. — Саратов, 2006.

37. **Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Афанасьева Г.А.** // Мед. академический журн., 2003. — Т. 3. — № 3 (приложение 4). — С. 86-87.

38. **Achtman M., Morelli G., Zhu P. et al.** // PNAS, 2004. — V. 101. — P. 17837-17842.

39. **Brade H.** Endotoxin in Health and Disease. — N.-Y.-Basel, 1999.

40. **Heumann D.** // J. Endotox. Res., 2001. — № 7 (6). — P. 439-441.

41. **Hurley J.C., Levin J.** // Endotoxin in Health and Disease.. — N.-Y.-Basel, 1999. — P. 841-854.

42. **Lippi D., Conti A.** // J. Infect., 2002. — V. 44. — № 4. — P. 226-228.

43. **Moor K.J.** // Curr. Opin. Microbiol., 2001. — № 4 (1).

44. **Nicado H.** / In: Neidhardt F.C., Curtiss III R., Ingraham J.L. et al. Escherichia coli and Salmonella typhimurium, Cellular and Molecular Biology. 2d ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1996. — P. 29-47.

45. **Nicado H.** / In: Aloia R.C., Curtain C.C., Gordon L.M. // Membrane Transport and Information

Storage. *Advances in Membrane Fluidity*. New York: Alan Riss., 1990. – V. 4. – P. 165-190.

46. Proktor R. *Handbook of endotoxin*. – Amsterdam-Nev-York-Oxford, 1984.

47. Vita N., Lefort S., Sozzani P. // *J. Immunol.*, 1997. – P. 3457-3462.

48. Whitby M., Ruff T.A., Street A.C. et al. // *Med. J. Austral.*, 2002. – V. 176. – № 12. – P. 605-608.

49. Zahringer U., Lindner B., Rietschel E. / In: *Endotoxin in Health and Disease*. – N.Y.-Basel, 1999. – P. 93-114.

50. Zhou Z., Iones B. // *Circulat.Shock.*, 1990. – V. 32. – P. 5566.

Материал поступил в редакцию 18.06.08.

G.A.Afanasyeva, N.P.Chesnokova

INDUCTION AND POTENTIATION MECHANISMS OF CYTOPATHOGENIC EFFECTS POSED BY *YERSINIA PESTIS* ENDOTOXIN

Saratov State Medical University

Literature modern data about *Y. pestis* lipopolysaccharide (LPS) structure and reception mechanisms by host cells are reviewed. LPS is considered as a toxic pathogenicity factor produced by the plague bacillus and inducing the development of structural, metabolic and functional disturbances at the initial stage of plague infection and intoxication. Clinical manifestations of LPS cytopathogenic effects are of cytokine-mediated character and intensify as hypoxic syndrome and free radical-induced destabilization of biological membranes develop.



НАС СПРАШИВАЮТ

В англо-американской токсикологической литературе используются такие акронимы как TEEL-0, TEEL-1 и т. д. Объясните, пожалуйста, их предназначение.

TEEL (Temporary Emergency Exposure Limit) – временной аварийный предел воздействия химического соединения в воздухе.

Величины TEELs, устанавливаемые американским Министерством энергетики (ДООЕ), классифицируются как TEEL-0, TEEL-1, TEEL-2, TEEL-3 и используются для характеристики уровня загрязнения воздуха рабочей зоны химическими соединениями.

TEEL-0 – пороговая концентрация, ниже которой большинство людей не испытывают осязаемого, поддающегося оценке, риска для здоровья.

TEEL-1: (ERPG-1)* – максимальная концентрация, при воздействии ниже которой считается, что почти все индивидуумы не испытывают последствий для здоровья (кроме легких и быстро проходящих) или ощущения, четко определяемого, неприятного запаха.

* ERPG – Emergency Response Planning Guidelines. Руководство по планированию реагирования на аварийные ситуации устанавливает пределы аварийных воздействий для химических веществ, определяемых комитетом ERPG АИНА (American Industrial Hygiene Association) – Американская ассоциация промышленной гигиены. Website: www.aiha.org

TEEL-2: (ERPG-2) – максимальная концентрация в воздухе, ниже которой считается, что почти все индивидуумы могут подвергнуться ее воздействию, не испытывая или без развития необратимых или серьезных последствий для здоровья или симптомов, которые могут ухудшить их способность к защите.

TEEL-3: (ERPG-3) – максимальная концентрация вещества в воздухе, ниже которой практически все индивидуумы могут подвергаться ее воздействию, не испытывая как во время воздействия, так и в будущем эффектов, угрожающих здоровью и жизни.

Значения TEEL-0 приводятся для сопоставления со средневзвешенным уровнем (TWA), устанавливаемым для 8-часового ежедневного воздействия, TEEL-1 – для кратковременного 15-минутного воздействия (STEL) в течение рабочей смены, TEEL-2 – для «потолочных» концентраций (Ceiling) и TEEL-3 – для сравнения с уровнем воздействия, непосредственно опасным для жизни и здоровья (IDLH). Подробности на веб-странице http://www.eh.doe.gov/chem_safety//teel.html

Для иллюстрации изложенного в табл. приведены уровни допустимого содержания химических соединений с различным характером дей-

Таблица

Величины допустимого содержания химических веществ для воздуха рабочей зоны в США, мг/м³

| Вещество, № CAS | Организация | TWA | TEEL-0 | STEL | TEEL-1 | Ceiling | TEEL-2 | IDLH | | TEEL-3 |
|---------------------------|-------------|------|--------|------|--------|---------|--------|--------|-------|--------|
| | | | | | | | | а | б | |
| Ацетон, 67-64-1 | ACGIH | 1200 | 1000 | 1785 | 1000 | - | 8500 | 595000 | 47509 | 8500 |
| | NIOSH | 590 | | - | | - | | | | |
| | OSHA | 2400 | | - | | - | | | | |
| Бензол, 71-43-2 | ACGIH | 1,6 | 1 | 8 | 50 | - | 150 | 1595 | 9584 | 1000 |
| | NIOSH | 0,3 | | 3,2 | | - | | | | |
| | OSHA | 3,2 | | 16 | | - | | | | |
| Бутиламин, 109-73-9 | ACGIH | - | 5 | - | 5 | 15 | 50 | 897 | 5983 | 300 |
| | NIOSH | - | | - | | 15 | | | | |
| | OSHA | - | | - | | 15 | | | | |
| Формальдегид, 50-00-0 | ACGIH | - | 0,3 | - | 1 | 0,37 | 10 | 24,6 | 36,8 | 25 |
| | NIOSH | 0,02 | | - | | 0,12 | | | | |
| | OSHA | 0,9 | | 2,5 | | - | | | | |
| Этилмеркаптан, 75-08-1 | ACGIH | 1,3 | 0,5 | - | 10 | - | 10 | 1270 | 6353 | 500 |
| | NIOSH | - | | - | | 1,3 | | | | |
| | OSHA | - | | - | | 25 | | | | |

ствия на организм, установленные ACGIH (Американская конференция правительственных промышленных гигиенистов) [2], OSHA (Администрация по безопасности профессионального труда и здоровья) [1] и NIOSH (Национальный институт по технике безопасности на производстве и гигиене труда) [1] в сравнении с величинами TEELs [3]. Величины IDLH (а) цитированы по [1], IDLH (б) по [3].

Список литературы

1. *NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards. DHHS (NIOSH) Publication № 2005–149.*
2. *TLVs and BEIs. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices. ACGIH. Signature Publications, 2005. – P. 1-100.*
3. *Global Occupational Exposure Limits for Over 5,000 Specific Chemicals, 2006.*

К.К.Сидоров

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

УДК 615.9 (092 Нечипоренко)

СЕРГЕЙ ПЕТРОВИЧ НЕЧИПОРЕНКО (к 60-летию со дня рождения)

С.П.Нечипоренко родился 27 декабря 1948 г. в Ленинграде. В 1972 г. окончил Первый Ленинградский медицинских институт им. академика И.П.Павлова по специальности «лечебное дело».

С 1973 г. по 1980 г. работал младшим научным сотрудником в 1 ЦНИИ Минобороны СССР, в 1979 г. защитил кандидатскую диссертацию по специальности «токсикология» под руководством видного отечественного токсиколога академика Л.А.Тиунова.



С 1980 г. С.П.Нечипоренко работает в Институте токсикологии, где прошел путь от младшего научного сотрудника до заведующего лабораторией. С декабря 1992 г. С.П.Нечипоренко занимал должность заместителя директора Института по научной работе, а с апреля 2007 г., в соответствии с Приказом ФМБА России назначен директором Института токсикологии.

В 1997 г. С.П.Нечипоренко защитил докторскую диссертацию, посвященную диагностике и лечению ингаляци-

онных поражений фосфорорганическими соединениями, в 2002 г. ему присвоено ученое звание профессора по специальности «токсикология».

Работая более четверти века в Институте токсикологии, С.П.Нечипоренко внес большой вклад в развитие приоритетных научных исследований, направленных на обеспечение химической безопасности страны. Это относится, в первую очередь, к созданию средств медицинской защиты от высокотоксичных химических веществ – антидотов. Приоритетность этих разработок защищена патентами РФ на изобретения, где С.П.Нечипоренко является членом авторских коллективов.

Еще одним важным направлением научно-практической деятельности С.П.Нечипоренко является руководство и непосредственное участие в исследованиях по разработке методов ранней диагностики, профилактики и лечения заболеваний химической этиологии.

С.П.Нечипоренко обладает незаурядными организаторскими способностями. В 1988 г. он возглавил созданную в Институте новую лабораторию антидотных средств, в дальнейшем преобразованную в лабораторию прикладной токсикологии и фармакологии. Лаборатория стала основной научно-исследовательской базой для развития одного из главных научных направлений деятельности Института – разработки средств и методов профилактики и лечения отравлений. В настоящее время он продолжает руководство лабораторией на общественных началах.

При активном участии С.П.Нечипоренко в 1997 г. Приказом Министерства здравоохранения России в Институте токсикологии создана консультативно-диагностическая токсикологическая поликлиника. Была научно обоснована и внедрена новая форма медицинской помощи населению – амбулаторная токсикология, включающая в себя систему и методы оказания помощи при заболеваниях, обусловленных действием химически опасных веществ на производстве и в быту.

Большое внимание профессор Нечипоренко С.П. уделяет общественно-научной деятель-

ности, а также подготовке высоко квалифицированных специалистов. Под его руководством выполнены и успешно защищены 3 докторские и 9 кандидатских диссертаций. С.П.Нечипоренко является автором и соавтором более 150 научных публикаций, в том числе 2-х монографий, имеет более 20 авторских свидетельств и патентов РФ на изобретение.

С.П.Нечипоренко является членом двух диссертационных советов – при НИИЦ медико-биологической защиты государственного НИИИ военной медицины и 1 ЦНИИ Минобороны России, в 2001–2007 гг. являлся заместителем председателя диссертационного совета при Институте токсикологии. Он член Правления Всероссийской общественной организации токсикологов, член Научно-Технического Совета ФМБА России, председатель Проблемной комиссии НТС № 4 «Токсикология, гигиена, профпатология, индикация, дегазация при работе с высокотоксичными химическими веществами», член редакционных советов научно-практического журнала «Медицина экстремальных ситуаций» и Российского медико-биологического журнала Medline.ru. С 2003 г. С.П.Нечипоренко является заместителем председателя Научного совета по токсикологии (№ 43) РАМН и МЗСР РФ.

За активную научно-практическую и общественную деятельность С.П.Нечипоренко награжден знаками «Отличник здравоохранения», 1985 г., «Изобретатель СССР», 1986 г., «За создание медико-токсикологического регистра военнослужащих», 2004 г., «За заслуги в уничтожении химического оружия», 2007 г. и медалью «В память 300-летия Санкт-Петербурга», 2007 г.

Поздравляем Сергея Петровича со знаменательной датой, желаем доброго здоровья, творческих успехов и личного счастья.

**ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России
Правление Всероссийской общественной организации токсикологов
Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»**

ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора



БЮЛЛЕТЕНЬ

Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

Монографии Международного агентства по изучению рака (МАИР) по оценке канцерогенного риска для человека

Том 89. Бездымный табак и некоторые табакспецифичные N-нитрозамины*

*IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Smokeless Tobacco and Some Tobacco-specific *jV*-Nitrosamines. – Vol. 89. Lyon; France. – 2007.*

Бездымный табак

Использование табака насчитывает, по крайней мере, 5000 лет среди коренных жителей Америки, а к XVIII веку оно широко распространилось по всему миру. Основные табачные продукты преимущественно изготавливаются из видов *Nicotiana tabacum*, но в Азии и Африке часто для их производства используются *N. rustica* и другие виды. В целом, бездымный табак представлен широким спектром продуктов, которые при применении не поджигают, а используют орально или назально. Они применяются сотнями миллионов людей во многих регионах мира. Наибольшее число пользователей бездымного табака проживает в Юго-Восточной Азии, особенно в Индии и Бангладеш. Их использование растет во многих популяциях.

Бездымные табачные продукты отличаются по своему составу и химическому профилю, но все они содержат никотин, который вызывает привыкание. Дозы никотина в бездымных табачных продуктах, особенно в нюхательном табаке, зависят от коммерческих производителей и варьируют в различных типах и марках продукта в зависимости от технических условий приготовления. Кроме того, все бездымные табачные продукты содержат известные канцерогены, возникающие в них, главным образом, в процессе переработки. Наиболее существенными среди них являются табакспецифичные N-нитроамины, N-нитроаминовые кислоты, летучие N-нитроамины и альдегиды. Содержа-

ание N-нитроаминов в бездымных табачных продуктах на несколько порядков выше их уровня в пищевых продуктах и косметических товарах. Некоторые бездымные табачные продукты содержат также большие количества канцерогенных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ).

Некоторые ученые предложили использовать бездымные табачные продукты в антикурительных программах и утверждают, что их использование снизило бы воздействие канцерогенов на курильщиков и риск рака. Они также относят снижение распространенности табакокурения в Швеции за счет повышения использования нюхательного табака. Однако эти утверждения не подтверждаются имеющимися данными.

Отдельные виды бездымного табака запрещены или контролируются в ряде стран, но во многих регионах мира такой контроль или не существует, или степень применения регулирующих мер не поддается оценке.

Данные о канцерогенности для человека

Рак полости рта

Исследование онкологического риска, связанного с применением бездымных табачных изделий в качестве жевательных смесей, нюхательного табака, было проведено в разных странах: в США, Индии, Пакистане, Швеции и др. Получены убедительные данные, свидетельствующие о многократном повышении риска среди пользователей этих продуктов. Так, в США среди некурящих и не употребляющих алкоголь лиц, нюхавших табак, наблюдалась дозозависимая связь между длительностью его применения и риском развития опухолей десны и буккального эпителия. В Индии и Пакистане, где широко распространено жевание смесей, содержащих табак, риск возникновения опухолей полости рта у некурящих был повышен в 8–15 раз. Исследование, проведенное в южной Швеции среди некурящих лиц, нюхавших табак, выявило пятикратно повышенный риск опухолей головы и шеи.

* Перепечатка из информационного бюллетеня «Первичная профилактика рака», вып. № 1 (7–8), 2008.

Подтверждением канцерогенной опасности бездымных табачных продуктов являются сообщения о возникновении рака полости рта в местах контакта этих продуктов со слизистой рта. Кроме того, высокие показатели заболеваемости раком полости рта, отмечаются в районах с высокой распространенностью бездымного табака: среди пользователей тумбака в Судане, насса и шаммаха в центральной Азии и Саудовской Аравии. Исследования, проведенные во многих странах, выявили сильную связь между использованием бездымных табачных продуктов и предопухолевыми поражениями слизистой полости рта, такими как лейкоплакии.

Рак пищевода

Пятикратное повышение риска рака пищевода было обнаружено у некурящих, жующих листья табака, проживающих в штате Ассам, в Индии. В шведском исследовании случай-контроль отмечено среднее повышение риска с его более высокими показателями у лиц, длительно использующих бездымный табак. В этом же исследовании наблюдалась дозо-ответная связь с интенсивностью использования, хотя повышения риска не отмечено в группе с самой высокой интенсивностью. В норвежском когортном исследовании выявлено статистически незначимое повышение риска. Еще в одном шведском исследовании, проведенном методом случай-контроль, отмечено небольшое повышение риска, а в американском исследовании данного эффекта не обнаружено.

Рак поджелудочной железы

В нескольких исследованиях, проведенных в США и Норвегии, была обнаружена положительная связь между использованием бездымного табака и раком поджелудочной железы.

Данные о канцерогенности для животных

Статистически значимое повышение частоты плоскоклеточного рака и папиллом полости рта и носа, преджелудка и недифференцированных сарком губы было получено у крыс, которым вводили увлажненный нюхательный табак в хирургически сформированный канал в полости рта.

Общая оценка

Бездымный табак канцерогенен для человека (Группа 1).

Табакспецифичные N-нитрозамины

Табакспецифичные N-нитрозамины (N-НА), включающие 4-(метилнитрозоамино)-1-(3-пиридил)-1-бутанон (NNK), N-нитрозонорникотин (NNN), N-нитрозоанабазин (NAB) и N-нит-

розоанатабин (NAT), широко встречаются в табаке и табачном дыме. Они образуются при нитрозировании никотина и других табачных алкалоидов и определяются в зеленых листьях табака видов *Nicotiana tabacum* и *N. rustica*, однако наибольшие их количества образуются во время сушки табака и производства табачных изделий. Дополнительное количество табакоспецифичных N-нитрозаминов образуется в процессе курения. Они встречаются во всех табачных продуктах, включая сигареты, сигары, бидис, трубочный табак и бездымные табачные продукты. Самые высокие концентрации этих веществ определены в бездымных табачных продуктах. Например, содержание NNK в северо-американских и европейских бездымных продуктах достигает 17,8 мкг/г, индийских – 245 мкг/г, суданском тумбаке – 7870 мкг/г. Концентрации NNN в них на перечисленных территориях доходят до 135 мкг/г, 1356 мкг/г и 3085 мкг/г соответственно. Эти же вещества присутствуют и в табачном дыме. Степень воздействия зависит не только от их концентрации в табачных продуктах или дыме, но и от способа использования табачных изделий.

Данные о канцерогенности для человека

Такого рода данных нет, поскольку в изолированном виде эти вещества не встречаются, в связи с чем считается, что доказательства их канцерогенности для человека носят неадекватный характер.

Данные о канцерогенности для животных

Проведены многочисленные опыты на животных, которые дали убедительные доказательства канцерогенности для экспериментальных животных NNN и NNK, а также его метаболита 4-(метилнитрозоамино)-1-(3-пиридил)-1-бутанола. Ограниченные доказательства канцерогенности получены для NAB и неадекватные для NAT.

Общая оценка

NNK и NNN – наиболее распространенные в бездымных табачных продуктах и сильные канцерогены. При оценке их канцерогенности учтено, что механизм их канцерогенеза у животных сходен с таковым у человека. Они являются доказанными канцерогенами для человека (Группа 1) NAB и NAT не могут быть классифицированы относительно их канцерогенности для человека (Группа 3).

Д.б.н. Л.Г.Соленова

ГУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 550.42: 550.40: 552.14

С.А.Остроумов¹, В.Н.Данилова²,
С.Д.Хушвахтова², В.В.Ермаков²¹МГУ им. М.В.Ломоносова, биологический факультет²Институт геохимии и аналитической химии
им. В.И.Вернадского РАН, Москва

РТУТЬ В МЯГКИХ ТКАНЯХ И РАКОВИНАХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ

Ртуть – важный экотоксикант, который опасен для здоровья человека и др. видов живых существ.

Ряд авторов изучали содержание ртути в двустворчатых моллюсках морских экосистем [1-3]. Предельно допустимая концентрация (ПДК) ртути в мягких тканях («мясе») мидий равна 0,2 мг/кг сырой массы [2], что в пересчете на 1 г составляет 0,2 мкг/г сырой массы. С учетом того, что сухая масса мягких тканей мидий составляет около 16% сырой массы мягких тканей, среднее значение ПДК в расчете на сухую массу тканей принимается равным 1,2 мг/кг, то есть 1,2 мкг/г сухой массы [2]. В случае мидий *M. galloprovincialis* из изученных бухт Крыма (Севастопольская, Казачья, Ласпинская бухты) такая концентрация ртути достигалась в мидиях возраста 1,5 года.

Измерено содержание ртути в мидиях *M. galloprovincialis* и из других мест Крымского побережья Черного моря. В мягких тканях трехлетних мидий из акватории г. Ялты концентрация ртути составляла 2 мкг/г сухой массы. В трехлетних мидиях, собранных вблизи мыса Тарханкут, содержание ртути составляло: в сухих мягких тканях 0,5–1,5 мкг/г, в раковинах 1,5–2 мкг/г [3].

Данных о содержании ртути в пресноводных моллюсках значительно меньше, хотя этот вопрос имеет большое значение.

В данной работе изучали содержание ртути в моллюсках *Unio pictorum*, собранных вблизи правого берега р.Десны перед ее впадением в р.Пахру (в районе поселка Дубровицы Подольского района Московской области).

Подготовку образцов к анализу вели следующим образом. Навески 1 г сухого веса раковин или мягких тканей моллюсков помещали в колбы на 100 мл и добавляли по 5 мл концентрированной азотной кислоты. Оставляли под тягой для растворения, накрыв стеклянными воронками. Затем к образцам с раковинами добавляли по 2,5 мл азотной кислоты, а к образцам с мягкими тканями – по 5 мл азотной кислоты. Некоторое время происходил выход пузырьков газа. По завершении процесса выхода газа, в колбы добавили по 0,2 мл этилового спирта. После периода времени, в течение которого выходили бурые пары, образцы поставили на водяную баню (80–90°C) и добавили в горячие пробы дистиллированную воду (соотношение объемов воды и азотной кислоты 1:1). Затем добавили по 3 капли KMnO₄ (5%) и выдержали на водяной бане еще 15 мин. Затем проводили определение общей ртути на анализаторе ртути Юлия-2, соединенном с иономером И-135.

Содержание ртути в мягких тканях *Unio pictorum* приведено в табл. 1. Некоторые из анализированных образцов, в которых измеряли концентрацию ртути, представляли собой сумму мягких тканей двух и более моллюсков. Их мягкие ткани объединяли для увеличения массы анализируемого образца, поскольку методика проведения пробоподготовки требовала наличия существенного количества материала. Такое объединение мягких тканей требовалось в случае относительно малых по размеру и весу моллюсков.

Таблица 1

Ртуть в мягких тканях двустворчатых пресноводных моллюсков *Unio pictorum*

| Номер образца | Концентрация ртути, нг/г сухого веса | Вес мягких тканей моллюсков (сухой вес), г | Длина моллюсков, мм | Сырой вес цельных моллюсков (вместе с раковинами), г |
|--|--------------------------------------|--|------------------------|--|
| 1 | 157 | 1,3 | 75 | 30,7 |
| 2 | 133 | 0,9 | 65 | 20,4 |
| 3 (объединены мягкие ткани 2-х небольших моллюсков) | 214 | Суммарный вес тканей 2-х моллюсков 1,6 | 60 и 56 | 16,1 и 14,2 |
| 4 (объединены мягкие ткани 2-х небольших моллюсков) | 185 | Суммарный вес тканей 2-х моллюсков 1,4 | 55 и 56 | 13,9 и 13,6 |
| 5 (объединены мягкие ткани 6-ти небольших моллюсков) | 217 | Суммарный вес тканей 6-ти моллюсков 1,6 | 57, 45, 46, 39, 38, 37 | 12,5; 7,9; 7,8; 4,1; 3,7; 3,1 |
| Среднее по образцам 1–5 | 181,2 | - | см. выше | см. выше |

Ртуть в раковинах двустворчатых пресноводных моллюсков *Unio pictorum*

| Номер образца | Концентрация ртути, нг/г сухого веса | Вес двух раковин моллюска (суммарный сухой вес), г | Длина моллюска, мм | Сырой вес цельного моллюска (вместе с раковинами), г |
|--------------------------|--------------------------------------|--|--------------------|--|
| 6 | 138 | 4,2 | 45 | 7,9 |
| 7 | 207 | 3,5 | 46 | 7,8 |
| 8 | 172 | 2,0 | 39 | 4,1 |
| 9 | 154 | 1,7 | 38 | 3,7 |
| 10 | 129 | 1,4 | 35 | 3,1 |
| Среднее по образцам 6–10 | 160 | - | см. выше | см. выше |

На основании данных табл. 1, среднее содержание ртути в мягких тканях исследованных моллюсков составило 181,2 нг/г сухого веса.

Содержание ртути в раковинах моллюсков *Unio pictorum* приведено в табл. 2.

По данным табл. 2, среднее содержание ртути в раковинах исследованных моллюсков составило 160 нг/г сухого веса.

Сравнивая среднее содержание ртути в мягких тканях и раковинах моллюсков *Unio pictorum*, можно видеть, что концентрации (в расчете на 1 г сухой массы) близки. Для сопоставления отметим, что при изучении содержания ртути в морских моллюсках во многих случаях также выявлена близость концентраций в мягких тканях и раковинах [2, 3]. Однако это не являлось абсолютной закономерностью — например, в мидиях из акватории Карадага содержание ртути в раковинах было на порядок более высоким, чем в мягких тканях [3].

Загрязнение моллюсков ртутью может иметь большое практическое значение, в особенности в случае употребления их в качестве продукта питания. Например, загрязнение ртутью вод р. Набок на острове Минданао (Филиппины) ртутью, связанное с добычей золота, имело как результат следующее. Ежедневное потребление в пищу 100 г моллюсков приводило к поступлению в организм жителей острова около 50 мкг ртути [4]. С учетом потребления и других продуктов питания, загрязненных ртутью, это вело к поступлению в организм 285 мкг ртути (эквивалентно 4,75 мкг/кг для человека весом 60 кг). Это в 3 раза превышало допустимый уровень (1,6 мкг/кг), что может объяснить, почему 38% населения вблизи р. Набок интоксцированы ртутью [4].

Новые данные о содержании ртути в пресноводных двустворчатых моллюсках важны для оценки роли моллюсков в мониторинге среды, который в свою очередь необходим для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Список литературы

1. Козинцев А.Ф., Рябушко В.И. Накопление тяжелых металлов в мидиях, культивируемых в бухте Казачья Черного моря // Морские биотехнические системы. — Вып. 2. — Севастополь, 2002. — С. 222-230.
2. Рябушко В.И., Егоров В.Н., Козинцев А.Ф. и др. Ртуть в мидиях *Mytilus galloprovincialis* из бухт Крымского побережья Черного моря // Морской экологический журнал, 2002. — Т. 1. — № 1. — С. 99-107.
3. Рябушко В.И., Козинцев А.Ф., Костова С.К. и др. Концентрация ртути в воде, донных отложениях и мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. на шельфе Крыма (Черное море) // Там же, 2005. — Т. 4. — № 3. — С. 79-87.
4. Appleton J.D., Weeks J.M., Calvez J.P. et al. Impacts of mercury contaminated mining waste on soil quality, crops, bivalves, and fish in the Naboc River area, Mindanao, Philippines // Sci. Total Environ., 2006. — V. 354. — P. 198-211.

Материал поступил в редакцию 30.05.08.

УДК 574.6:574.64

И.М.Ворожун, С.А.Остроумов
МГУ им. М.В.Ломоносова,
биологический факультет

ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТ НАТРИЯ: ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ДАФНИЙ*

Фильтрационная активность водных организмов — важная составляющая функционирования экосистем [1]). Ранее было показано, что поверхностно-активное вещество додецилсульфат натрия (ДСН) ингибировало фильтрационную активность *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis* и некоторых других водных организмов-фильтраторов [2-12].

Цель данной работы — проверить, оказывает ли ДСН ингибирующее воздействие на фильтра-

* см. также «Токсикологический вестник» № 3, 1997; № 6, 2001.

Концентрация клеток водорослей *Scenedesmus quadricauda*, тыс. клеток в 1 мл, в сосудах с дафниями *Daphnia magna*, при различных уровнях ДСН

| Длительность инкубации, ч | Концентрация ДСН, мг/л | | | | | |
|---------------------------|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 (контроль) | 0,1 | 0,5 | 1 | 5 | 10 |
| 0 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 |
| 3 | 288 | 336 | 360 | 360 | 360 | 360 |
| 6 | 240 | 240 | 240 | 240 | 280 | 320 |
| 9 | 200 | 200 | 200 | 200 | 240 | 280 |
| 12 | 160 | 160 | 160 | 160 | 200 | 240 |
| 24 | 40 | 40 | 40 | 40 | 80 | 120 |

ционную активность еще одного массового вида фильтраторов – дафний *Daphnia magna*. В опытах использовали *Daphnia magna* размером около 1 мм в возрасте 5 дней. До начала опыта их содержали в лабораторных условиях в сосудах, куда добавляли в качестве корма зеленые водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. в сравнительно низкой концентрации (около < 50 тыс. кл/мл). В начале опыта клетки *S. quadricauda* были добавлены в более высокой концентрации (400 тыс. кл/мл). Наряду с контрольным вариантом (инкубация дафний в среде без добавления ДСН) были поставлены варианты, где в среду инкубации добавляли ДСН в концентрациях 0,1, 0,5, 1, 5 и 10 мг/л. Концентрации были подобраны в предварительных опытах. Измерение концентрации клеток *S. quadricauda* проводили путем подсчета в камере Нажотта (глубина 0,5 мм) через 3, 6, 9, 12 и 24 ч после начала опыта. В каждом сосуде в объеме 50 мл содержалось 25 дафний. Инкубацию вели при температуре $24 \pm 1,5$ °С. Каждый вариант был поставлен в двух повторностях.

Опыты показали, что с течением времени происходило постепенное снижение концентрации клеток водорослей *S. quadricauda* по сравнению с началом инкубации (табл.). Это свидетельствовало о том, что имело место изъятие дафниями клеток водорослей из воды в результате ее фильтрации организмами ракообразных. Снижение концентрации наблюдалось и в контроле, и при нескольких концентрациях ДСН (0,1, 0,5, 1, 5 и 10 мг/л).

Через 3 ч инкубации при всех исследованных концентрациях ДСН (0,1 мг/л и более) численность клеток водорослей была больше, чем в контроле, что указывает на снижение скорости фильтрации и эффективности изъятия водорослей из воды.

При концентрации ДСН 5 и 10 мг/л после периода фильтрации 6–24 ч наблюдали более высокие численности клеток *S. quadricauda*, чем в контроле.

При сравнительно меньших концентрациях ДСН (0,1, 0,5 и 1 мг/л) отличие от контроля

наблюдалось после 3 ч инкубации; затем, через 6–24 ч инкубации отличия численности клеток от контроля не наблюдали.

Существенно, что в течение 3 суток от начала опыта не наблюдали никакого повышения смертности дафний, подвергнутых воздействию изученных концентраций ДСН. Таким образом, все выявленные эффекты имели место при сублетальных концентрациях ДСН.

Токсикологическая опасность ДСН, по-видимому, связана, с мембранотропным характером этого вещества, относящегося к анионным поверхностно-активным веществам [11].

Полученные данные важны для понимания опасности антропогенных нарушений экологических процессов, существенных для самоочищения воды в водных экосистемах [5, 6].

Список литературы

1. Алимов А.Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. – Л.: Наука. 1981. (Труды Зоологического института АН СССР, т. 96). – 248 с.
2. Донкин П., Остроумов С.А. // Токсикологический вестник, 1997. – № 3. – С. 37.
3. Остроумов С.А., Донкин П., Стафф Ф. // ДАН, 1998. – Т. 362. – № 4. – С. 574–576.
4. Остроумов С.А. Биологические эффекты поверхностно-активных веществ в связи с антропогенными воздействиями на биосферу. – М.: МАКС-Пресс, 2000. – 116 с.
5. Остроумов С.А. // Известия РАН. Сер. Биол., 2001. – № 1. – С. 108–116.
6. Остроумов С.А. // Токсикологический вестник, 2001. – № 6. – С. 30–35.
7. Остроумов С.А. // Гидробиологический журнал, 2003. – Т. 39. – № 2. – С. 103–108.
8. Остроумов С.А. // ДАН, 2004. – Т. 396. – № 1. – С. 136–141.
9. Остроумов С.А. // Успехи современной биологии, 2004. – Т. 124. – № 5. – С. 429–442.
10. Открытие нового вида опасных антропогенных воздействий в экологии животных и биосфере: ингибирование фильтрационной активности моллюсков поверхностно-активными веществами. 2-е изд. – М.: МАКС-Пресс, 2008. – 108 с.

11. Свойство синтетических поверхностно-активных веществ снижать фильтрационную активность двустворчатых моллюсков (Диплом научного открытия № 274) // В кн.: Научные открытия (Сборник кратких описаний научных открытий – 2005). – М.: Международная академия авторов научных открытий и изобретений, 2006. – С. 5-8.

12. *Ostroumov S.A.* // *Hydrobiologia*, 2005. – V. 542. – № 1. – P. 275-286.

13. *Ostroumov S.A.* *Biological Effects of Surfactants*. CRC Press. Taylor & Francis. Boca Raton, London, New York, 2006. – 279 p.

14. *Ostroumov S.A., Widdows J.* // *Hydrobiologia*, 2006. – V. 556. – № 1. P. 381-386.

Материал поступил в редакцию 02.06.08.

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Гуськова Т.А. **Токсикология лекарственных средств. 2-е изд., доп.** – М.: МДВ, 2008. – 196 с. 200 экз.

Козинец Г.И. **Анализ крови и мочи: Клиническое значение. – 2-е изд., перераб., доп.** – М.: Практик. медицина, 2008. – 151 с. 3000 экз.

Крыжановский С.А., Цорин И.Б. **Рецептурный справочник с общей рецептурой.** – М.: Академия, 2008. – 360 с. – (Сред. проф. образование: Здравоохранение). 2500 экз.

Куликов О.Н., Ролин Е.И. **Охрана труда при производстве сварочных работ: Учеб. пособие. – 5-е изд., стереотип.** – М.: Академия, 2008. – 176 с. – (Нач. проф. образование: Металлообработка). 5000 экз.

Лужников Е.А., Суходолова Г.Н. **Клиническая токсикология. – 4-е изд., перераб, доп.** – М.: МИА, 2008. – 567 с. 3000 экз.

Мусселиус С.Г. **Синдром эндогенной интоксикации при неотложных состояниях.** – М.: БИНОМ, 2008. – 200 с. 2000 экз.

Иванов А.В., Трмасов М.Я., Папуниди К.Х., Чулков А.К. **Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика) / Под ред. проф. А.В.Иванова.** – М. Колос, 2008. – 140 с. 1000 экз.

Новейший справочник лекарственных препаратов / Сост. Л.И.Деревянченко. – Белгород, Харьков: Книж. клуб семейного досуга, 2008. – 414 с. 10000 экз.

Новый англо-русский медицинский словарь: Ок. 75000 терминов / Под общ. ред. В.Л.Ривкина, М.С.Бенюмовича. – М.: АБВУ Press, 2008. – 831 с. 4560 экз.

Сирота Н.А., Ялтонский В.М. **Профилактика наркомании и алкоголизма: Учеб. пособие для вузов. – 4-е изд., стереотип.** – М.: Академия, 2008. – 175 с. – (Высш. проф. образование: Психология). 2000 экз.

3-й съезд токсикологов России. 2–5 декабря 2008 г., Москва. Тезисы докладов. М-во здравоохранения и соц. развития Российской Федерации [и др.]. – М., 2008. – 556 с. – 500 экз.

Токсикологическая химия: Практикум: Учеб. пособие для вузов. – М.: Эксмо, 2008. – 524 с. – (Мед. образование). 2500 экз.

Трахтенберг И.М. **Остановиться, оглядеться. Воспоминания, раздумья, портреты: в 2-х кн.** – Киев: Авиценна, 2008.

Кн. 1. – 400 с. 1000 экз.

Кн. 2. – 328 с. 1000 экз.

Трахтенберг И.М., Коваленко В.М., Кокшарева Н.В., Жмілько П.Г., Чумак В.Т., Байла О.П. **Альтернативні методи і тест-системи. Лікарська токсикологія / За редакцією акад. АМНУ І.М.Трахтенберга.** – Киев: Авицена, 2008. – 272 с. 500 экз.

Хиггинс К. **Расшифровка клинических лабораторных анализов / Пер. с англ. – 3-е изд.** – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. – 375 с. 1000 экз.

International Agency for Research on Cancer (IARC). Nonserial Publication: World Cancer Report. IARC, Lyon, France, 2008. <http://www.monographs.iarc.fr>

WHO Library Cataloguing in Publication Data. Concise international chemical assessment document (CICAD) № 74: 2-Butenal. WHO, Geneva, 2008. <http://www.who.int/ipcs/en>

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC): Workshop report WR № 13-Counting the Costs and Benefits of Chemical Controls. Role of Environmental Risk Assessment in Socio-Economic Analysis. Brussels, Belgium, 2008. <http://www.ecetoc.org>

WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS). The IPCS Harmonization Project, September 2008 Newsletter. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/ipcs/en>

WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS). Summary report on pesticide residues: Acceptable daily intakes, acute reference doses, short-term and long-term intakes, recommended maximum residue limits and supervised trials median residue values recorded by the 2008 meeting. Geneva, Switzerland, 2008. <http://www.who.int/ipcs/en>

WHO-UNEP. International Programme on Chemical Safety. Sound management of pesticides and diagnosis and treatment of pesticide poisoning. Geneva, Switzerland, 2008. <http://www.who.int/ipcs/en>

К.К.Сидоров, А.А.Виноградова

ИНФОРМАЦИЯ

ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора извещает о том, что в январе-феврале 2009 г. закончился срок действия государственной регистрации следующих веществ

| № п/п | Наименование вещества по IUPAC | № CAS | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер государственной регистрации Номер РПОХБВ | Дата окончания срока государственной регистрации |
|-------|---|------------|---|---|--|
| 1 | N,N'-Бис(2-фуранилметил)гексан-1,6-диамин $C_{16}H_{20}N_2O_2$ | 17329-19-0 | N,N'-Гексаметиленбисфурфурилендамин; N,N'-дифурфуриленгексаметилендиамин; 1,6-бисфурфуриленгексаметилендиамин; бифургин | 77.99.26.8.У. 5448.6.06 ВТ 001726 | 21.02.2009 |
| 2 | Алюминий-молибден-титан AlMoTi | | Лигатура на основе молибдена марки АМТ-1, АМТ-1Д, АМТ-2, АМТ-2Д | 77.99.27.8.У. 8028.8.06 АТ 002412 | 29.01.2009 |
| 3 | Гафний Hf | 7440-58-6 | Гафний; входит в состав гафниевых катодных вставок для электродов ЭП-03 и ЭП-03А | 77.99.27.8.У. 8024.8.06 АТ 002414 | 06.02.2009 |
| 4 | Алюминий-молибден-кремний-цирконий AlMoSiZr | | Лигатура алюминий-цирконий-молибден-кремний марок АЦМК-1, АЦМК-1Д, АЦМК-2, АЦМК-2Д | 77.99.26.8.У. 8025.8.06 АТ 002416 | 11.02.2009 |
| 5 | Алюминий-молибден-цирконий AlMoZr | | Лигатура молибден-цирконий-алюминий марки АЦМ | 77.99.27.8.У. 8026.8.06 АТ 002417 | 11.02.2009 |
| 6 | Алюминий-кремний-молибден-хром AlCrMoSi | | Лигатура на основе молибдена марки АХМК-1, АХМК-1Д, АХМК-2, АХМК-2Д | 77.99.27.8.У. 8027.8.06 АТ 002429 | 25.02.2009 |
| 7 | 5-Амино-2,3-дигидрофта-лазин-1,4-диона натриевая соль $C_8H_6N_3NaO_2$ | 20666-12-0 | Гидразид 3-аминофталево-й кислоты натриевая соль; 3-аминофтальгидразида натриевая соль; 2-амино-1,2,3,4-тетрагидрофта-лазин-1,4-диона натриевая соль; Амазид, Амазит, Лазарин, люминола натриевая соль; входят в состав Галавита | 77.99.26.008.У. 001488.02.06 ВТ 002796 | 06.02.2009 |
| 8 | N,N-Диметил-1,3-пропан-диамин $C_5H_{14}N_2$ | 109-55-7 | 3-Аминопропилдиметиламин; N,N-диметил-1,3-диаминпропан; 1-амино-3-диметиламинопропан; 3-(диметиламино)-1-пропанамин; 3-амино-1-(диметиламино)пропан; γ -диметиламинопропиламин; 3-диметиламинопропиламин; Catalyst amine 93150 | 77.99.26.8.У. 5444.6.06 ВТ 002799 | 15.02.2009 |
| 9 | Три(1-хлор-2-метилэтил)фосфат $C_9H_{18}Cl_3O_4P$ | 13674-84-5 | Три(2-хлоризопропил)фосфат; трис(2-хлор-1-метилэтиловый)эфир фосфорной кислоты; 1-хлор-2-пропанол фосфат (3:1); трис(2-хлор-1-метилэтил)фосфат, Lupragen* ТСРР (Лупраген* ТСРР) | 77.99.26.8.У. 5443.6.06 ВТ 002800 | 15.02.2009 |
| 10 | 2,2'-Оксибис(N,N-диметилэтанамин) $C_8H_{20}N_2O$ | 3033-62-3 | Бис(2-диметиламиноэтил)эфир; 2,2'-оксибис(N,N-диметилэтиламин); N,N,N,N-тетраметил-2,2-оксибис(этиламин); входит в состав продуктов ДАВСОБЛ 11; Niah Cat E-A-1 (Ниакс Катализатор E-A-1); Лупраген № 206 | 77.99.26.8.У. 5445.6.06 ВТ 002801 | 15.02.2009 |
| 11 | N,N-Диметилциклогексана-мин $C_8H_{17}N$ | 98-94-2 | N-Циклогексилдиметиламин; циклогексилдиметиламин; N,N-диметилциклогексиламин; Katalysator-Amin 93040 | 77.99.26.8.У. 5446.6.06 ВТ 002802 | 15.02.2009 |

| № п/п | Наименование вещества по IUPAC | № CAS | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ | Дата окончания срока госрегистрации |
|-------|---|------------|---|--|-------------------------------------|
| 12 | N, N-Бис[3-(диметиламино)пропил]-N',N'-диметил-1,3-пропандиамин $C_{15}H_{36}N_4$ | 33329-35-0 | 3,3',3''-Три(диметиламино)трипропиламин; трис(3-диметиламино)пропиламин; POLYCAT* 9 Catalyst (Поликат* 9 катализатор); Katalysator-Amin 93290 | 77.99.26.8.У. 5442.6.06 ВТ 002803 | 15.02.2009 |
| 13 | 4,8-Диамино-1,5-дигидрокси-2-(4-метоксифенил)антрацен-9,10-дион $C_{21}H_{16}N_2O_5$ | 4702-64-1 | 1,5-Диамино-4,8-дигидрокси-3-(п-метоксифенил)антрахинон; краситель органический дисперсный синий 3 полиэфирный; Disperse Blue 73; С.І. 63265 | 77.99.27.008.У. 001938.03.06 ВТ 002804 | 26.02.2009 |

Производство и применение перечисленных веществ возможно только после их перерегистрации.

**ПЕРЕЧЕНЬ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ,
ПРОШЕДШИХ ГОСУДАРСТВЕННУЮ РЕГИСТРАЦИЮ
(печатается с продолжением, сообщение № 84*)**

| № п/п | Наименование вещества по IUPAC | № CAS | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ | Дата регистрации | Срок действия госрегистрации |
|-------|---|------------|--|---|------------------|------------------------------|
| 1 | Алкил C_{14-16} -диметилбензолметанаминийхлорид $C_{23-25}H_{42-46}NCl$ | 68449-41-2 | Алкил C_{14-16} -диметилбензиламиний хлорид, Продукт АСТICIDE ВАС 50М и АСТICIDE ВАС 80 /водные растворы вещества/ | 77.99.26.8.У. 9289.10.08 ВТ 003052 | 31.10.08 | временно до 09.09.11 |
| 2 | 5-Амино-2,3-дигидрофталазин-1,4-дион $C_8H_7N_3O_2$ | 521-31-3 | 3-Аминофталгидразид; 3-аминофталево́й кислоты гидразид; Люминол чистый | 77.99.26.8.У. 9026.10.08 ВТ 002748 | 21.10.08 | временно до 13.10.11 |
| 3 | 3-Амино-N-(карбоксиметил)-N,N-диметил-N-кокоацил (производные)-1-пропанаминий-гидроксид внутренняя соль | 61789-40-0 | N-(3-Кокоамидопропил)-N,N-диметил-N-карбоксиметилбетаин; (N-кокоамидопропил)-N,N-диметилглицин гидроксид внутренняя соль; кокоамидопропилбетаин | 77.99.26.8.У. 10333.12.08 ВТ 002765 | 08.12.08 | временно до 13.12.11 |
| 4 | N,N-Бис(2-гидроксиэтил)кокоалкиламид | 68603-42-9 | N,N-Бис(2-гидроксиэтил)кокосового масла амид; N,N-бис(2-гидроксиэтил)жирных кислот кокосового масла амид; диэтаноламид кислот кокосового масла; N,N-бис(2-гидроксиэтил)кокоалкиламид | 77.99.26.8.У. 10334.12.08 ВТ 002780 | 02.12.08 | временно до 20.12.11 |
| 5 | 2-Гидроксипропан-1,2,3-трикарбонат тринатрия дигидрат $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ | 6132-04-3 | Цитрат тринатрия дигидрат; лимоннокислый натрий трехзамещенный двухводный; цитрат натрия трехзамещенный двухводный технический | 77.99.26.8.У. 9884.11.08 ВТ 003025 | 25.11.08 | постоянно |
| 6 | 2-Гидроксипропиловый эфир гуаровой смолы $[C_{18}H_{34}O_9]_n$ | 39421-75-5 | Slurriable HPG J456; входит в состав Water Gelling Agent J347 | 77.99.26.8.У. 9025.10.08 ВТ 003040 | 21.10.08 | временно до 24.06.11 |
| 7 | 4-(Диметиламино)- α -[4-(диметиламино)фенил]- α -фенилбензолметанол $C_{23}H_{26}N_2O$ | 510-13-4 | α, α -Бис[4-(диметиламин)фенил]бензолметанол; сольвент зеленый 1; основание основного ярко-зеленого; основание малахитового зеленого Ж; С.І.42000:1 | 77.99.26.8.У. 8691.10.08 ВТ 002376 | 03.10.08 | временно до 26.11.11 |

* Начало в № 4 за 1994 г.

| № п/п | Наименование вещества по IUPAC | № CAS | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ | Дата регистрации | Срок действия госрегистрации |
|-------|---|------------|---|---|------------------|------------------------------|
| 8 | N,N-Диметил-N-проп-2-енилпроп-2-ен-1-аминийхлорид $C_8H_{16}ClN$ | 7398-69-8 | Диаллилдиметиламинийхлорид; диаллилдиметиламмоний хлорид; диметилдиаллиламмоний хлористый (ДМДААХ) | 77.99.26.8.У. 11180.12.08 ВТ 002797 | 23.12.08 | временно до 07.02.12 |
| 9 | Калий цианат CNKO | 590-28-3 | Калиевая соль циановой кислоты; калий изоцианат; калий цианат; калий циановокислый | 77.99.26.8.У. 9023.10.08 АТ 002736 | 21.10.08 | временно до 13.07.11 |
| 10 | Лигносульфонаты натриевые, натрий-аммониевые | | Лигносульфонаты технические порошкообразные | 77.99.26.8.У. 8220.9.08 ВТ 003048 | 22.09.08 | постоянно |
| 11 | 2-Метил-5-хлор-(2H)-изотиазол-3-он с 2-метил-(2H)-изотиазол-3-оном $C_4H_4ClNOS+C_4H_5NOS$ | 55965-84-9 | 5-Хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он с 2-метил-4-изотиазолин-3-оном; 5-хлор-2-метил-3(2H)-изотиазолон с 2-метил-3(2H)-изотиазолон; Acticide SPX; Acticide MV; Acticide MV14 (водные растворы) | 77.99.26.8.У. 9293.10.08 ВТ 003055 | 31.10.08 | временно до 19.09.11 |
| 12 | 4,4'-Метилендиморфолин $C_9H_{18}N_2O_2$ | 5625-90-1 | Диморфолинметан; бис(морфолин)метан; N,N'-метиленбисморфолин; Actidic EF (водный раствор) | 77.99.26.8.У. 9295.10.08 ВТ 003057 | 31.10.08 | постоянно |
| 13 | Продукт на основе полипропилена, сополимера стирола и дивинилбензола, сульфированный | | Катализатор КУ-2ФПП | 77.99.26.8.У. 8229.9.08 ВТ 003044 | 22.09.08 | постоянно |
| 14 | Продукт хлорирования 1,4-диметилбензола и парафинов фракции C_{10-30} | | Гепсол-ХКП | 77.99.26.8.У. 9024.10.08 ВТ 003042 | 21.10.08 | постоянно |
| 15 | Серебро (I) хлорид $AgCl$ | 7783-90-6 | Серебро хлористое; серебро монохлорид; серебро хлорид; продукт ACTICIDE AGT 2 /водный раствор вещества/ | 77.99.26.8.У. 9294.10.08 АТ 003051 | 31.10.08 | временно до 08.09.11 |
| 16 | Тетрагидро-1,3,4,6-тетраakis(гидроксиметил)имидазо[4,5-d]имидазол-2,5(1H,3H)-дион $C_8H_{14}N_4O_6$ | 5395-50-6 | Тетраоксиацетилмочевина; тетраметилолацетиленидимочевина; продукт ACTICIDE F(N) /водный раствор вещества/ | 77.99.26.8.У. 9292.10.08 ВТ 003053 | 31.10.08 | временно до 10.09.11 |
| 17 | Фенилметил-(4R)-5-амино-4-[[(2S)-2-аминопропаноил]амино]-5-оксопентаноат этандиовой кислоты соль $C_{17}H_{23}N_3O_8$ | | H-L-Ala-D-Glu(OBzl)-NH ₂ оксалат; бензиловый эфир L-аланил-D-изоглутамин оксалат; фенилметил-N-L-аланил-D-α-глутамин оксалат; дипептид оксалат; Ala-D-iGlu-OBzl. (COOH) ₂ | 77.99.26.8.У. 10085.12.08 ВТ 003058 | 01.12.08 | временно до 23.09.11 |
| 18 | Формальдегид метанольный | | Формалин метанольный | 77.99.26.8.У. 8230.9.08 ВТ 003043 | 22.09.08 | постоянно |
| 19 | Фракция бутан-бутиленовая | | Фракция бутан-бутиленовая – продукт каталитического крекинга; фракция бутан-бутиленовая | 77.99.26.8.У. 8606.10.08 ВТ 003047 | 08.10.08 | постоянно |
| 20 | Фракция пропан-пропиленовая | | Фракция пропан-пропиленовая – продукт каталитического крекинга; фракция пропан-пропиленовая | 77.99.26.8.У. 8605.10.08 ВТ 003046 | 08.10.08 | постоянно |
| 21 | 1,2-Этандиилбис(окси-2,1-этандиил)ди(2-метилпроп-2-еноат) $C_{14}H_{22}O_6$ | 109-16-0 | Диметакриловый эфир триэтиленгликоля; три(этиленгликоль)диметакрилат; этиленбис(оксиэтилен)метакрилат; трис(оксиэтилен)-α,γ-диметакрилат; 2,2'-(оксибис[(этан-1,2-дилокси)бис(этанол)]ди(2-метилпроп-2-еноат)); олигоэфиракрилат TGM-3; POLYESTER TGM-3 | 77.99.26.8.У. 10335.12.08 ВТ 003065 | 08.12.08 | постоянно |



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

редакция просит авторов при направлении статей в «Токсикологический вестник» руководствоваться следующими положениями



1. Статья, являющаяся результатом работ, проведенных в учреждениях, должна иметь направление от руководства учреждения, в необходимых случаях — сопровождаться экспертным заключением. Если статья является фрагментом диссертационной работы, в направлении следует указать фамилию соискателя.
2. Статья должна быть напечатана на компьютере (пишущей машинке) через 2 интервала на одной стороне листа. Поля с левой стороны листа должны иметь не менее 4 см, рукописные вставки не допускаются. Текст и графические материалы (желательно ограничиться минимальным числом рисунков) представляются в 2-х экземплярах, один из которых — обязательно первый оттиск. Желательно предоставить компьютерную версию на дискете 3,5", Zip, CD в форматах *.txt, *.doc, *.rtf. Внедренные изображения должны быть представлены отдельным исходным файлом в форматах: рисунки — *.tiff, *.eps с разрешением 300 dpi; графики — формате *.xls.
3. Размер оригинальных статей, включая графический материал, список литературы и аннотацию, не должен превышать 8–10 листов. Статья должна быть подписана автором, а при наличии нескольких авторов — всеми соавторами.
4. В выходных данных необходимо указать: инициалы и фамилию автора(ов), название работы, полное название учреждения, из которого вышла работа, город. В конце статьи следует привести фамилию, имя, отчество автора(ов), домашний адрес (с почтовым индексом) и номер телефона (служебный и домашний).
5. Оригинальная статья должна состоять из следующих разделов: введения, методики исследования, результатов и обсуждения, выводов, списка литературы. Методика исследования должна быть описана четко, так, чтобы ее можно было легко воспроизвести. Указывается вид и количество использованных экспериментальных животных, применявшиеся методы обезболивания и умерщвления в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Минздравом.
6. Химические формулы, таблицы, дозы, цитаты визируются автором на полях статьи. Рисунки и чертежи должны быть выполнены четко в формате, обеспечивающим легкость понимания всех деталей, особенно это относится к фотокопиям. Рисунки, выполненные карандашом, не принимаются. Надписи на рисунках следует, по возможности, заменять цифрами или буквенными обозначениями. Чертежи и рисунки должны быть представлены на отдельных листах. На обороте указываются: фамилия автора, название статьи, название и номер рисунка, принятые обозначения. Микрофотографии, рентгенограммы присылаются размером 6x9 (5x8) см в 2-х экземплярах. В подписях к микрофотографиям указываются увеличение (окуляр, объектив), метод окраски или импрегнации материала.
7. Место, где в тексте статьи приводится ссылка на рисунок или таблицу, отмечается квадратом на поле слева. В квадрате ставится номер рисунка или таблицы.
8. Математические формулы должны быть четко вписаны черными чернилами. В формулах необходимо различать: а) строчные и прописные буквы (прописные обозначаются двумя черточками снизу, строчные — двумя черточками сверху), б) подстрочные буквы и цифры обозначаются скобкой вниз, надстрочные — скобкой вверх, в) следует различать букву «O» от цифры «0» (ноль) и букву «3» от цифры «3» (три), для чего буквы необходимо помечать двумя черточками (сверху или снизу), а цифры оставлять без разметки, г) следует различать греческую букву «сигма» от знака «сумма», который обводится карандашом и выносятся на поля, д) латинские буквы подчеркиваются синим, греческие — обводятся красным. Названия греческих букв выносятся на поля.
9. Сокращения, кроме общепринятых сокращений химических и математических величин, мер и терминов, не допускаются. В статье должна быть использована система единиц СИ.
10. Цитируемая литература приводится в конце статьи на отдельном листе; в статье в квадратных скобках дается ссылка на порядковый номер по списку, например [5]. Список литературы должен быть оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ 7.1.-84 «Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления».
11. К оригинальной статье должна быть приложена на отдельном листе аннотация, размером не более 0,25 страницы машинописного текста, отражающая основное содержание работы. В начале аннотации дается название статьи, фамилия(и) автора(ов), а также ключевые слова (не более 5).
12. Направление в редакцию работ, опубликованных или посланных для напечатания в другие издания, не допускается.
13. Редакция просит учитывать, что ответственность за достоверность изложенных в статьях материалов и за их конфиденциальность несут только авторы. С их согласия в статьи могут вноситься редакторские правки и изменения.
14. Статьи, оформленные без соблюдения указанных требований, к рассмотрению не принимаются.
15. Материалы для опубликования следует направлять по адресу: 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19-а. ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора.