



Издается с июля 1993 г.

Выходит 1 раз в 2 месяца

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

| | |
|---|----|
| III съезд токсикологов России. 1-ое информационное сообщение | 2 |
| Хальфин Р.А., Сенцов В.Г., Бровкин М.В., Бровкин В.А. Преждевременная смертность, обусловленная острыми отравлениями в свердловской области, и ее социально-экономические последствия | 4 |
| Чупис В.Н., Лушчай Е.А., Ларин И.Н., Загреков А.А., Ильина Е.В., Иванов Д.Е. Токсикологическая оценка реакционной массы, образующейся при детоксикации люизита | 8 |
| Нагиев Э.Р., Сейфаддинова М.С., Исмаилова Ф.Э. Катаболизм и реутилизация адениловых нуклеотидов в сыворотке крови крыс при остром отравлении газоконденсатом | 13 |
| Суханов В.А., Саприн А.Н., Калинин Е.В., Федорова Т.Ю., Пирюзян Л.А. Влияние фенотипа метаболического окисления у нелинейных животных на их восприимчивость к токсическому действию полициклических ароматических углеводородов | 17 |
| Иванов С.Д., Собуцкий М.П., Монахов А.С., Кованько Е.Г. Экспрессная оценка генотоксических эффектов низких доз радиационно-ртутных воздействий | 21 |
| Базельюк Л.Т. Метаболическая активность клеток кроветворной системы крыс при воздействии угольно-породной пыли и физической нагрузки | 25 |
| Саратовских Е.А., Козлова Н.Б. Изучение аккумуляции пестицидов в жирной фазе | 29 |
| Долго-Сабуров В.Б., Подосиновикова Н.П., Петров В.В., Трефилов В.В., Беляев В.А. К сравнительной оценке токсичности ксенобиотиков | 34 |
| Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г. Влияние сверхмалых концентраций нитрозогуанидина на митотическое деление зародышевых и сперматогонимальных клеток плотвы | 37 |
| БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ | |
| Монографии Международного агентства по изучению рака (МАИР) по оценке канцерогенного риска для человека (том 86-88) | 41 |
| Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ | 45 |
| Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам | 48 |
| Информация | 49 |
| Перечень химических и биологических веществ, прошедших государственную регистрацию (сообщение № 79) | 50 |

| | |
|---|----|
| III Congress of Russian Toxicologists. 1st Announcement | 2 |
| Khalfin R.A., Sentsov V.G., Brovkin M.V., Brovkin V.A. Premature mortality caused by acute poisonings in the Sverdlov Region and its social and economic consequences | 4 |
| Chupis V.N., Lushchay Ye.A., Larin I.N., Zagrekov A.A., Ilyina Ye.V., Ivanov D.Ye. Toxicological assessment of reaction masses formed at detoxication of Lewisite | 8 |
| Nagiyev E.R., Seyfadinova M.S., Ismailova F.E. Catabolism and reutilization of adenile nucleotides in rats blood serum at acute poisoning by gas condensate | 13 |
| Sukhanov V.A., Saprin A.N., Kalinina Ye.V., Fedorova T.Yu., Piruzyan L.A. Effect of the metabolic oxidation phenotype in non-inbred animals on their susceptibility to toxic action of polycyclic aromatic hydrocarbons | 17 |
| Ivanov S.D., Sobutskiy M.P., Monakhov A.S., Kovanko Ye.G. Express-assessment of genotoxic effects produced by radioactive and mercury exposures in low doses | 21 |
| Bazelyuk L.T. Metabolic activity of hematopoietic system cells in rats exposed to coal and rock dust and physical load | 25 |
| Saratovskikh Ye.A., Kozlova N.B. Studies on accumulation of pesticides in fatty phase | 29 |
| Dolgo-Saburov V.B., Podosinikovova N.P., Petrov V.V., Trefilov V.V., Belyaev V.A. About comparative assessment of toxicity of xenobiotics | 34 |
| Talikhina M.G., Izyumov Yu.G. Impact of super-low nitrosoguanidine concentrations on mitotic division of germ and of spermatogonic cells in <i>Rutilus rutilus</i> | 37 |
| BULLETIN OF THE RUSSIAN REGISTER OF POTENTIALLY HAZARDOUS CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES | |
| Monographs IARC on the evaluation of the carcinogenic risk to humans (vol. 86-88) | 41 |
| News on toxicity and hazard of chemical and biological substances | 45 |
| New publications on toxicology and related disciplines | 48 |
| Information | 49 |
| List of chemical and biological substances registered on the state level (list № 79) | 50 |

Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Российская академия медицинских наук

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Всероссийская общественная организация токсикологов

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

III Съезд токсикологов России

24–27 ноября 2008 года г. Москва

1-е информационное сообщение

О съезде

В соответствии с планом научно-практических мероприятий Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, РАМН и РАН с 24 по 27 ноября 2008 года в г. Москве проводится III съезд токсикологов России.

Съезды токсикологов России созываются один раз в четыре–пять лет и являются наиболее представительными форумами, определяющими развитие отечественной токсикологии. В работе съезда принимают участие токсикологи всех направлений.

Председатель Оргкомитета съезда

Г.Г. Онищенко – руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, академик РАМН

Заместители председателя Оргкомитета съезда

Б.А. Курляндский – директор ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, член-корр. РАМН

Е.А. Лужников – руководитель Республиканского центра острых отравлений, академик РАМН

Ответственный секретарь Оргкомитета съезда

Х.Х. Хамидулина – руководитель отдела ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, доктор мед. наук

Спонсоры съезда

(приглашаются)

Научная программа

В программе Съезда предусмотрены пленарные, а также отдельные секционные заседания по проблемам клинической токсикологии, профилатической токсикологии, лекарственной токсикологии, экологической токсикологии, токсикологии чрезвычайных ситуаций, включающие следующие направления:

- Итоги развития токсикологии в России и ее задачи по охране природы и здоровья населения

- Методология идентификации риска при токсических воздействиях и ее роль в деятельности органов здравоохранения

- Токсикология химикатов и лекарственных средств, разработанных на основе нанотехнологии, био- и клеточных технологий

- Проблемы возрастной токсикологии

- Нерешенные вопросы диагностики и лечения острых химических отравлений

- Превращение токсикантов в организме и воздействие на систему рецептор-медиатор, конъюгация и транспорт токсиканта в клетке

- Влияние токсикантов на нейрогуморальную регуляцию и взаимодействие с гормональными рецепторами. Иммунотоксикология и аллерготоксикология

- Токсикогенетика, токсикогеномика, протеомика. Влияние токсикантов на механизмы генетической регуляции. Генетический полиморфизм

- Альтернативные методы исследования в токсикологии

- Токсикология экосистем и биологический мониторинг

- Проблемы организации, стандартизации и профессиональной подготовки в токсикологии. Межотраслевая и внутриведомственная координация

- Химический терроризм и особенности фармакотерапии острых заболеваний, предположительно химической этиологии.

Выставки

Во время съезда будут работать выставки приборов, оборудования, лекарственных препаратов, медицинской книги, а также экспозиции журналов, информационных материалов и публикаций по вопросам токсикологии и смежных дисциплин.

Заявки на участие

Заявки на участие в работе съезда, тезисы докладов, а также заявки на выступления и стендовые доклады следует присылать до 01 июля 2008 г. Отбор докладов будет проводиться с учетом специфики съезда и принятой научной тематики.

Для участников и гостей съезда будут бронированы места в гостинице. О необходимости бронирования просьба указать в заявке.

Оформление представляемых материалов и регистрация участников

К опубликованию будут приняты тезисы устных и стендовых докладов, включенных в программу съезда. Объем тезисов не более 2-х страниц текста (включая таблицы и список литературы) формата А4, напечатанного через один интервал (кегель – 14) в редакторе MS Word 7,0 и старше. Фамилию докладчика пометить звездочкой. Внедренные изображения должны быть представлены отдельным исходным файлом в форматах: рисунки – *.eps, *.tiff с разрешением 300 dpi; графики – формате *.xls.

Направление тезисов докладов и регистрация участников осуществляются через сайт ФГУЗ РПОХБВ: раздел «Съезд токсикологов» (адрес: <http://www.rpohv.ru/tox/>).

Лица и организации, не располагающие доступом в Интернет, направляют тезисы по почте в 2-х экз. с обязательным электронным сопровождением (дискета, CD, Zip).

Регистрационный взнос

Регистрационный взнос для граждан Российской Федерации и других стран СНГ составляет 1500 руб., для сопровождающих лиц 1000 руб., студентов и аспирантов – 500 руб.

Регистрационный взнос включает оплату издания тезисов докладов, аренду помещений, социальную программу.

Участники съезда, желающие воспользоваться платным питанием (завтрак, обед, ужин – 900 руб./день (завтрак, обед – 612 руб./день), также должны сделать предварительную оплату либо сообщить о своем желании и оплатить указанную сумму при расселении в гостинице.

Регистрационные взносы следует перечислить до 1 августа 2008 г. на расчетный счет ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора:

ИНН 7707056258/ КПП 770701001

УФК по г. Москве (л/сч. 06141803310 ФГУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора)

р/сч № 40503810600001009079 Отделение 1 Московского ГТУ Банка России г. Москва 705 БИК 044583001

Получатель: КБК 14130201010010000130

ОКТО 4528655585000

Разрешение № 141/140 от 15.04.2005

Назначение платежа: разр. п. 17. Средства поступающие от оказания консультативных услуг. Оплата за съезд токсикологов.

В платежном документе обязательно указывать назначение платежа и фамилию участника, за которого оплачивается регистрационный взнос.

Копию платежного документа в возможно короткий срок направлять по факсу: 8 (499) 973-26-57 ФГУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора.

Участие организаций и предприятий

Оргкомитет приглашает российские предприятия и зарубежные фирмы, связанные с производством и применением химических веществ, продуктов и материалов и заинтересованных в их ускоренном продвижении на российский рынок, принять участие в различных формах презентации их деятельности.

Форма презентации: стендовый доклад, участие в дискуссиях и выставке, публикация в рекламных материалах съезда.

Размер регистрационного взноса зависит от формы презентации. Информация о размерах регистрационного взноса может быть получена в Российском регистре потенциально опасных химических и биологических веществ Роспотребнадзора.

Адрес и телефоны для контактов и переписки

127994, г. Москва, Вадковский пер., 18/20

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

Оргкомитет 3-го съезда токсикологов России

Тел: 8 (499) 973-14-13, тел./факс: 8 (499) 973-26-57

E-mail: root@regchem.msk.ru

Веб-сайт: <http://www.rpohv.ru/tox/>.

Форма заявки на участие в съезде

| | |
|---|-------|
| Фамилия | _____ |
| Имя | _____ |
| Отчество | _____ |
| Место работы | _____ |
| Должность | _____ |
| Ученая степень | _____ |
| Научное звание | _____ |
| Адрес | _____ |
| Телефон служ. | _____ |
| Телефон дом. | _____ |
| Факс | _____ |
| e-mail: | _____ |
| Тема доклада | _____ |
| Прочту забронировать _____ мест в гостинице | |
| Прочту заказать питание: | |
| 2-х разовое | _____ |
| 3-х разовое | _____ |

УДК 615.9.036.11:312.2(470.54)

Р.А.Хальфин, В.Г.Сенцов, М.В.Бровкин, В.А.Бровкин

ПРЕЖДЕВРЕМЕННАЯ СМЕРТНОСТЬ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ ОСТРЫМИ ОТРАВЛЕНИЯМИ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ, И ЕЕ СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ

*Государственное общеобразовательное учреждение высшего профессионального образования
«Уральская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и
социального развития Российской Федерации, Екатеринбург*

Экономическая составляющая ущерба, обусловленного преждевременной смертностью от острых отравлений, рассчитывается исходя из соотношения количества недожитых человеко-лет с долей валового регионального продукта, приходящегося на одного жителя области. Динамика изменения экономического ущерба в виде объема недоданного из-за преждевременной смертности от отравлений валового регионального продукта зависит не только от изменения количества недожитых человеко-лет, но и значительной мере от показателей экономического роста исследуемого региона.

Ключевые слова: отравления, смертность, социальный ущерб, экономический ущерб.

Введение. За последние годы изменяются соотношения различных нозологических форм как причин смерти. Вклад сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний в структуре смертности сократился, а доля умерших от внешних и управляемых причин возросла.

Смертность от несчастных случаев, отравлений и травм последние десятилетия неуклонно увеличивается и её влияние на ожидаемую продолжительность жизни становится все более сильным. Данный показатель становится сравним с показателем смертности от заболеваний системы кровообращения, занимающих первое место в структуре общей смертности. В 2000–2003 гг. в Свердловской области умершие от болезней системы кровообращения составляли 55–56% против 15–17% умерших от внешних причин. Кажущееся противоречие в оценке важности данной проблемы объясняется тем, что основная масса смертей от управляемых причин приходится на молодой возраст, в отличие от контингента умерших от сердечно-сосудистой патологии. Так, по данным проведенного исследования средний возраст умерших среди обоих полов от болезней системы кровообращения составил 72 года, в то время, как для внешних причин – лишь 37 лет.

Цель исследования: научно проанализировать социально-экономический ущерб от преждевременной смертности, обусловленной острыми отравлениями в Свердловской области за семь лет.

Задачи исследования: 1) провести сравнительный анализ абсолютных чисел умерших по полу и возрасту в Свердловской области в пери-

од с 1998 по 2004 гг. от острых экзогенных отравлений; 2) рассчитать и проанализировать показатели не дожитых человеко-лет до конца трудоспособного возраста от исследуемой нозологической группы отдельно для мужской и женской части населения Свердловской области в 1998–2004 гг. в трех возрастных группах: от 0 лет до конца трудоспособного возраста; от 0 до 16 лет, в трудоспособном возрасте; 3) рассчитать экономический ущерб обществу от преждевременной смертности населения Свердловской области в 1998–2004 гг. в различных половозрастных группах от исследуемых причин смерти на основании недоданного ВРП (валового регионального продукта).

Понятие анализа социального ущерба обществу от преждевременной смертности от той или иной нозологической формы включает в себя количественное определение недожитой жизни, измеряемой в человеко-годах. В основе определения данного показателя заложен принцип потенциальной демографии. Исследование построено на анализе недожитых человеко-лет от преждевременной смертности от отравлений в трудоспособном возрасте. С помощью построения моделей гипотетических таблиц дожития, при условии исключения смертности от отдельных причин, можно количественно определить какой ущерб средней продолжительности жизни наносит та или иная из них.

Проанализировать социально-экономический ущерб обществу от преждевременной смерти целесообразно, разделив все население на три возрастные когорты: дотрудоспособное население (в возрасте до 15 лет), трудоспособное (16–

55 лет для женщин и 16–60 лет для мужчин) и посттрудо­способное население. С точки зрения социально-экономического ущерба наиболее интересны первые две группы населения. Первая – являясь будущим трудовым потенциалом общества, вторая – несущая основную демографическую нагрузку в обществе.

Показатели смертности населения от острых отравлений увеличивались на протяжении всего изучаемого периода от 33 на 100 тыс. населения в 1998 г. до 62,4 – в 2004 г.

Таким образом, за семь лет смертность увеличилась почти в два раза. В 1998 г. в Свердловской области от отравлений умерло 1538 человек, в 2003 г. количество умерших увеличилось до 2871 человека. В возрастной структуре смертности основную массу случаев составили случаи смерти в трудоспособном возрасте.

Представленные данные иллюстрируют пре­валирование случаев смерти в трудоспособном возрасте на протяжении всего изучаемого периода. Показатели изменялись от 75,9% от общего числа умерших от острых отравлений в 2002 г. до 84,9% – в 2001 г. Не меньший интерес представляет распределение случаев смерти от отрав-

лений в трудоспособном периоде по полу и возрасту.

Данные показатели характеризуют динамику смертности от острых отравлений, что особенно актуально в свете изменений демографической ситуации в стране, а именно снижения численности населения России в целом и в Свердловской области, в частности. На протяжении изучаемого периода по причине отравлений умерло 12589 мужчины, из них 10657 – в возрасте от 0 до 60 лет, то есть в дотрудоспособном и трудоспособном периоде жизни. Мужчины, умершие в возрасте от 16 до 60 лет, составляют 84,2% от общего числа умерших при отравлениях.

Общее число смертей от острых отравлений среди мужского населения в период с 1998 по 2004 гг. увеличилось на 82,2%, при этом наибольшее значение показателя прироста смертей среди трудоспособного мужского населения наблюдалось в возрастной группе от 16 до 60 лет, что составило 87,7%, против 42,9% – в возрастной группе от 0 до 15 лет. В целом количество мужчин дотрудоспособного и трудоспособного возраста, умерших от анализируемых причин за семь лет, увеличилось на 87,4%.

Таблица 1

Соотношение абсолютного числа мужчин, умерших от острых отравлений по возрасту в Свердловской области в 1998–2004 гг.

| Год | Мужчины | Возрастная группа, годы | | |
|-------|---------|-------------------------|-------|-------|
| | | 0–15 | 16–60 | 0–60 |
| 1998 | 1183 | 7 | 987 | 994 |
| 1999 | 1509 | 6 | 1244 | 1250 |
| 2000 | 1685 | 9 | 1412 | 1421 |
| 2001 | 1704 | 4 | 1574 | 1578 |
| 2002 | 2054 | 11 | 1665 | 1676 |
| 2003 | 2299 | 9 | 1866 | 1875 |
| 2004 | 2155 | 10 | 1853 | 1863 |
| Всего | 12589 | 56 | 10601 | 10657 |

Таблица 2

Соотношение абсолютного числа женщин, умерших от острых отравлений по возрасту в Свердловской области в 1998–2004 гг.

| Год | Женщины | Возрастная группа, годы | | |
|-------|---------|-------------------------|-------|------|
| | | 0–15 | 16–55 | 0–55 |
| 1998 | 355 | 6 | 200 | 206 |
| 1999 | 429 | 4 | 239 | 243 |
| 2000 | 478 | 5 | 309 | 314 |
| 2001 | 522 | 2 | 310 | 312 |
| 2002 | 676 | 5 | 391 | 396 |
| 2003 | 772 | 6 | 440 | 446 |
| 2004 | 610 | 8 | 363 | 371 |
| Всего | 3842 | 36 | 2252 | 2288 |

Абсолютное количество недожитых человеко-лет до конца трудоспособного возраста в связи с преждевременной смертью мужского населения от острых отравлений в Свердловской области в различных возрастных группах в 1998–2004 гг.

| Год | Возрастная группа, годы | | |
|-------|-------------------------|--------|---------|
| | 0–15 | 16–60 | 0–60 |
| 1998 | 365 | 17296 | 17661 |
| 1999 | 338 | 22757 | 23095 |
| 2000 | 466 | 25966 | 26431,5 |
| 2001 | 212 | 30652 | 30863,5 |
| 2002 | 614 | 28205 | 28819 |
| 2003 | 499 | 30583 | 31082 |
| 2004 | 538 | 33284 | 33822 |
| Всего | 3032 | 188743 | 191775 |

Удельный вес случаев смерти в возрастной группе от 0 до 15 лет среди умерших от отравлений в возрасте от 0 до 60 лет на протяжении всего изучаемого периода колебался в интервале 0,25% в 2001 г. до 0,7% в 1998 г. Средний многолетний показатель в данной группе составил 0,44%. Группа мужчин трудоспособного возраста от 16 до 60 лет составляла в структуре повозрастной смертности за семь изучаемых лет 84,2%.

Ситуация с преждевременной смертностью от острых отравлений среди женского населения Свердловской области имеет схожую динамику на протяжении всего исследуемого периода. С 1998 по 2004 гг. от острых экзогенных отравлений в Свердловской области умерло 3842 женщины. Социально-экономическое значение показателей смертности женского населения не ограничивается оценкой ущерба от смертности данной категории населения непосредственно, но и включает в себя ущерб от смертности женщин фертильного возраста и девочек, как источника возобновления трудового потенциала страны.

Из 3842 женщин, умерших от острых отравлений за 7 лет, 2252 находились на момент смерти в трудоспособном возрасте (16–55 лет), 36 – в возрасте 0 до 15 лет.

Из общего количества женщин, умерших за семь лет от острых отравлений, 58,6% составляли случаи смерти в трудоспособном возрасте (от 16 до 55 лет). Доля женщин, умерших в возрасте от 0 до 15 лет, составила 0,9%. Наиболее социально-значимая возрастная группа женского населения – в возрастном интервале от 0 до 55 лет – составляет 59,6%.

Как и в случае с анализом смертности мужского населения, наблюдается значительный прирост случаев смерти женщин от изучаемой патологии в возрастных группах от 16 до 55 лет и в группе от 0 до 55 лет. Так, показатель прироста смертей среди женщин в возрасте от 16 до 55 лет в период с 1998 г. по 2004 г. составил 81,5%. Прирост числа женщин, умерших в возрасте от 0 до 55 лет, составил 92,2%. В целом прирост количества смертей от острых отравлений среди жен-

Абсолютное количество недожитых человеко-лет до конца трудоспособного возраста в связи с преждевременной смертью женского населения от острых отравлений в Свердловской области в различных возрастных группах в 1998–2004 гг.

| Год | Возрастная группа, годы | | |
|-------|-------------------------|-------|-------|
| | 0–15 | 16–55 | 0–55 |
| 1998 | 297 | 2630 | 2927 |
| 1999 | 187 | 3272 | 3459 |
| 2000 | 256 | 3937 | 4193 |
| 2001 | 86 | 4040 | 4126 |
| 2002 | 253 | 4703 | 4956 |
| 2003 | 294 | 5260 | 5554 |
| 2004 | 416 | 4749 | 5165 |
| Всего | 1789 | 28591 | 30380 |

Значения недоданного валового регионального продукта по причине преждевременной смертности в дотрудоспособном и трудоспособном возрасте (0–55 (60) лет) от отравлений населения Свердловской области в 1998–2003 гг.

| Год | Недоданный ВРП (млн. рублей) | | |
|-------|------------------------------|-------------------|----------|
| | мужское население | женское население | оба пола |
| 1998 | 296,7 | 49,2 | 345,9 |
| 1999 | 601,5 | 90,1 | 691,6 |
| 2000 | 954 | 151,3 | 1105,3 |
| 2001 | 1428,8 | 191 | 1619,8 |
| 2002 | 1562,7 | 268,7 | 1831,4 |
| 2003 | 2178,3 | 389,2 | 2567,5 |
| 2004 | 2800,1 | 427,6 | 3227,7 |
| Всего | 9822 | 1567,1 | 11389,2 |

щин в изучаемый период составил 71,8%.

Удельный вес случаев смерти среди женщин в возрастной группе от 0 до 15 лет на протяжении семилетнего периода колебался от 0,64% в 2001г. до 2,91% – в 1998 г. Средний многолетний показатель в данной возрастной группе женщин составил 0,9%. Группа женщин в возрасте от 16 до 55 лет составляла в структуре повозрастной смертности в среднем за семь лет 58,6%.

Проанализированные данные указывают на определенные различия в структуре показателей смерти в трудоспособном возрасте и динамике их изменений для мужского и женского населения Свердловской области на протяжении пяти изучаемых лет.

Общее количество умерших от отравлений в области за семь лет составило 16431 человек. Основное количество случаев приходится на мужское население – 12589 (76,6%), соответственно удельный вес женщин – 23,4%.

По результатам исследования количество недожитых человеко-лет по причине острых отравлений среди мужчин увеличивалось на протяжении всего исследуемого периода. В возрастной группе от 16 до 60 лет, составляющей трудоспособный возраст мужского населения, количество недожитых человеко-лет увеличилось с 17296 до 33284 или на 92,4%. В детско-подростковой возрастной группе от 0 до 15 лет при общей тенденции к повышению числа недожитых человеко-лет, динамика показателя неоднородна. Показатель изменялся от наименьшего значения 212 человеко-лет в 2001 г. до 614 – в 2002 г.

Количество недожитых человеко-лет в группе мужчин возраста от 0 до 60 лет имеет динамику за семь лет, схожую с показателями смертности в трудоспособном возрасте: от 17661 в 1998 г. до 33822 человеко-лет – в 2004г.(прирост показателя за пять лет на 91,5%). Данная возрастная группа наиболее полно характеризует динамику соци-

ального ущерба в обществе от преждевременной смертности, так как включает в себя как трудовой потенциал, так и прослойку населения, несущую основную демографическую нагрузку. Общее количество недожитых человеко-лет до конца трудоспособного возраста среди мужчин от изучаемой причины смерти составило 191775.

Картина изменения количества недожитых человеко-лет среди женского населения имеет схожую динамику.

Изменения данного показателя среди женского населения схожи с показателями мужского. Так, в группе трудоспособного возраста (от 16 до 55 лет) количество недожитых человеко-лет за изучаемый период увеличилось на 80,5%, а в группе, включающей дотрудоспособный и трудоспособный возраст (от 0 до 55 лет) – 76,5%. Общее количество недожитых женщинами человеко-лет по причине острых отравлений составило 30380 человеко-лет.

Соотношение прироста недожитых человеко-лет у мужчин и женщин соответствует показателям прироста абсолютного количества смертей от отравлений в соответствующих возрастных группах.

Общее количество недожитых населением человеко-лет до конца трудоспособного возраста среди населения обоих полов по причине смертности от отравлений составило 222155 человеко-лет. При этом, как уже упоминалось ранее, в исследовании не учитывался социальный ущерб от преждевременно утраченной репродуктивной функции женщин фертильного и детского возраста от отравлений.

Экономическая составляющая ущерба от преждевременной смертности от любой патологии рассчитывается исходя из соотношения количества недожитых человеко-лет с долей валового регионального продукта, приходящегося на одного жителя области (подушевой валовой

региональный продукт). Динамика изменения экономического ущерба в виде объема недоданного из-за преждевременной смертности от отравлений ВРП зависит не только от изменения количества недожитых человеко-лет, но и в значительной мере от показателей экономического роста исследуемого региона.

Количество недоданного ВРП из-за преждевременной смерти увеличилось с 345,9 млн. рублей в 1998 г. до 3 млрд. 227,7 млн. рублей в 2004 г.

Показатель недоданного ВРП для женского населения составил в 1998 г. — 49,2 млн. рублей, за семь лет показатель увеличился до 427,6 млн. рублей, прирост показателя составил 869%, т. е. более чем в 8 раз. Прирост данного показателя среди мужского населения за 5 лет составил 943,7%.

Общий объем экономического ущерба от преждевременной смертности трудоспособно-

го населения по причине отравлений в Свердловской области составил 11389,2 млн. рублей за весь исследуемый период с 1998 по 2004 гг.

Выводы. 1. Число отравлений в изучаемых возрастных группах на протяжении изученного периода значительно возросло. Проблема острых отравлений для Свердловской области остается актуальной.

2. Определена необходимость углубленного изучения медико-демографических показателей в возрастных группах, несущих основную демографическую нагрузку.

3. Острые отравления играют ведущую роль в структуре экономического и социального ущерба от преждевременной смертности трудоспособного населения в Свердловской области.

Материал поступил в редакцию 19.01.07.

R.A.Khalfin, V.G.Sentsov, M.V.Brovkin, V.A.Brovkin

PREMATURE MORTALITY CAUSED BY ACUTE POISONINGS IN THE SVERDLOV REGION AND ITS SOCIAL AND ECONOMIC CONSEQUENCES

Ural State Medical Academy, Ekaterinburg

The economic component of the damage caused by premature mortality from acute poisonings is estimated basing on correlation between the number of non-lived out years-persons and the share of the gross regional product per inhabitant of the region. The dynamic of the changing economic damage as an amount of non-produced gross regional product due to premature mortality depends not only on the number of non-lived out years-persons but to a great extent on indicators of the economic growth of the region under consideration.

УДК 615.9;623.459.424

В.Н.Чупис, Е.А.Лушай, И.Н.Ларин, А.А.Загреков, Е.В.Ильина, Д.Е.Иванов

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕАКЦИОННОЙ МАССЫ, ОБРАЗУЮЩЕЙСЯ ПРИ ДЕТОКСИКАЦИИ ЛЮИЗИТА

Институт промышленной экологии, Саратов

Приведены результаты изучения острой и хронической токсичности различных разведений реакционной массы, образующейся при уничтожении люизита, на инфузориях, люминесцентных бактериях, хлорелле, дафниях и цериодафниях. Установлено, что при повышении температуры культивационной среды чувствительность цериодафний к действию токсиканта повышается. Проведено изучение влияния различных разведений реакционной массы на двигательную активность дафний и плодовитость цериодафний. Для дафний и цериодафний рассчитаны летальная и безвредная кратность разбавления раствора реакционной массы.

Ключевые слова: люизитная реакционная масса, токсикологическая оценка, дафнии, люминесцентные бактерии, инфузории, хлорелла.

Введение. В марте 2006 г., в соответствии с международной Конвенцией ООН, началось запланированное уничтожение люизита на объекте по ликвидации химического оружия в г. Камбарка Удмуртской Республики. Люизит уничтожается методом щелочного гидролиза. При этом образуется реакционная масса, состоящая из арсенита

натрия, гидроксида натрия и хлорида натрия [2].

В связи с этим, в настоящее время оценка опасности токсичных отходов, образующихся при уничтожении химического оружия, является весьма актуальной задачей.

Целью нашей работы явилось изучение токсичности реакционной массы на таких распро-

страненных тест-объектах, как дафнии и цериодафнии, люминесцентные бактерии, инфузории и хлорелла.

Материалы и методы исследования. Реакционная масса, полученная в процессе уничтожения люизита отобрана 01.11.2006 г. на объекте уничтожения химического оружия в г. Камбарка. Реакционная масса представляла собой жидкость светло-серого цвета. Массовая доля арсенита натрия составляла $86464,7 \pm 14699,0$ мг/кг, гидроксида натрия $43163,2 \pm 5179,6$ мг/кг, хлористого натрия $91166,5 \pm 16409,9$ мг/кг.

При биотестировании использовали тест-организмы, относящиеся к различным систематическим группам (беспозвоночные, низшие растения, бактерии и инфузории).

Изменение интенсивности биолюминесценции бактерий (*Escherichia coli* M-17) при воздействии различных разведений реакционной массы оценивали с помощью аттестованной методики на приборе «Биотокс-10М» [8].

Определение токсичности исследуемых растворов по хемотаксической реакции инфузорий (*Paramecium caudatum*) проводили по аттестованной методике с применением прибора «Биотестер-2» [9].

Влияние растворов реакционной массы на рост водоросли хлореллы (*Chlorella vulgaris* Beijer) изучали с помощью методики Ю.С. Григорьева [4].

Влияние растворов на смертность дафний и цериодафний (*Daphnia magna* и *Ceriodaphnia affinis*) исследовали с помощью методик Н.С. Жмур [5, 6].

Биотестирование на цериодафниях при повышении температуры культивационной среды проводили в химических стаканах объемом 50 мл. В контрольные стаканы добавляли 25 мл культивационной среды и такой же объем растворов реакционной массы в стаканы опытной серии. В исследуемые растворы (0,025 и 0,005%) помещали по одной цериодафнии не более 24-часового возраста. Для каждой исследуемой серии использовали 10 химических стаканов. Инкубацию исследуемых проб проводили в течение 1,5 ч при температуре $+36^{\circ}\text{C}$. По завершении ин-

кубации проводили подсчет тест-объектов в каждом разведении и контроле.

Влияние растворов на спонтанную двигательную активность дафний оценивали следующим образом: в стаканы с культивационной водой (контроль) и тестируемыми растворами (опыт) помещали по 6 дафний. Через шесть и 24 ч каждую дафнию помещали в центр чашки Петри (дно расчерчено на квадраты 1 см^2) и регистрировали число пересеченных квадратов за минуту. Степень изменения активности оценивали по среднему количеству пересеченных дафниями квадратов. Статистическую обработку полученных с помощью этой методики результатов выполняли по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни [3].

Изучение хронического токсического действия растворов реакционной массы проводили по методике Н.С. Жмур [6]. Учет смертности цериодафний и родившейся молодежи осуществляли один раз в сутки ежедневно до конца хронического опыта. Хронический опыт был закончен, когда 60% самок в контроле дали три поколения молодежи.

Разведение раствора реакционной массы осуществляли в соответствии с требованиями, предъявляемыми при работе со сверхмалыми дозами [10].

Результаты и обсуждение. Установлено, что реакционная масса, разведенная в 20000 и 40000 раз, не оказывает острого токсического действия на дафний. Полученные данные представлены в табл. 1. Разведения в 4000 и 10000 раз оказывают острое токсическое действие (смертность 100%). Дополнительно было проведено исследование влияния разведений люизитной реакционной массы, оказывающее острое токсическое действие (разведение в 10000 раз) и не оказывающее острого токсического действия (разведение в 20000 раз) на спонтанную двигательную активность дафний. По данным табл. 2 можно сделать вывод, что подавление двигательной активности (через 24 ч) вызвало разведение, которое оказывало острую токсичность при эксперименте на выживаемость дафний – 10000 ($p < 0,05$). Разведение реакционной массы в 20000 раз статисти-

Таблица 1

Оценка токсичности различных разведений реакционной массы по смертности дафний

| Кратность разведения р-ра реакционной массы | Кол-во выживших дафний | Смертность дафний, % | Острое токсическое действие | Летальная кратность разбавления | Безвредная кратность разбавления |
|---|------------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 4000 | 0 | 100 | оказывает | 33333 | 100000 |
| 8000 | 0 | 100 | оказывает | | |
| 10000 | 0 | 100 | оказывает | | |
| 20000 | $9,7 \pm 0,76$ | 4,0 | не оказывает | | |
| 40000 | 10,0 | 0 | не оказывает | | |

Влияние растворов реакционной массы на спонтанную двигательную активность дафний

| Кратность разведения р-ра реакционной массы | Среднее число пересеченных квадратов за 1 мин | |
|---|---|------------|
| | через 6 ч | через 24 ч |
| Контроль | 14,8±6,7 | 25,3±5,6 |
| 10000 | 10±4,1 | 5,2±6,1* |
| 20000 | 14,6±4,9 | 23,2±8,3 |

Примечание: * – $p < 0,05$

чески достоверного влияния на двигательную активность не оказало.

Хронический опыт на цериодафниях показал, что реакционная масса, разведенная в 20000 раз, оказывает хроническое токсическое действие (летальность 30% на 2 день опыта и 100% на 4 сутки). При разведении в 62500 раза летальность была отмечена только на 8 день (60%). С 9 дня она увеличилась еще на 10% (табл. 3). Количество молоди в этом разведении достоверно отличалось от контроля ($p < 0,05$). Не было отличия в количестве молоди, родившейся от контроля при разведении в 200000 раз, но леталь-

ность в этом случае значительно снизилась. Она была зафиксирована на 9 день опыта (20%) и не увеличивалась до конца эксперимента.

Данные о влиянии различных разведений раствора реакционной массы на интенсивность биолюминесценции бактерий представлены в табл. 4. Сильная токсичность обнаружена у растворов реакционной массы с разведением 200–10000 раз. Растворы с более низкой концентрацией не оказывали существенного влияния на биолюминесценцию бактерий.

В табл. 5 приведены результаты оценки токсичности растворов реакционной массы по из-

Результаты биотестирования по смертности (%) и плодовитости цериодафний в 14-дневном эксперименте (в знаменателе указано среднее число новорожденных цериодафний)

| Кратность разведения р-ра реакционной массы | Время от начала биотестирования, сут. | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|----|----|-----|-----|-----|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|-----|--------------------------|--------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 20000 | 0 | 30 | 30 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 62500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | $\frac{0}{2,0 \pm 0,1}$ | $\frac{60}{3,0 \pm 1,0}$ | 70 | $\frac{70}{1,5 \pm 0,7}$ | 70 | 70 | $\frac{70}{5,0 \pm 0,2}$ | $\frac{70}{3,5 \pm 1,5}$ |
| 200000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | $\frac{0}{3,2 \pm 1,7}$ | $\frac{20}{1,0 \pm 0,1}$ | $\frac{20}{2,3 \pm 1,5}$ | 20 | 20 | $\frac{20}{4,1 \pm 2,2}$ | $\frac{20}{3,0 \pm 1,4}$ |
| Контроль | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | $\frac{0}{2,0 \pm 1,0}$ | $\frac{0}{3,3 \pm 1,2}$ | $\frac{0}{1,0 \pm 0,1}$ | $\frac{0}{2,8 \pm 2,1}$ | 0 | 0 | $\frac{0}{4,2 \pm 2,1}$ | $\frac{0}{3,8 \pm 1,5}$ |

Влияние растворов реакционной массы на интенсивность биолюминесценции бактерий

| Кратность разведения р-ра реакционной массы | Индекс токсичности, Т | Степень токсичности |
|---|-----------------------|---------------------|
| 200 | 99,70±0,08 | сильная |
| 2000 | 84,15±2,38 | сильная |
| 10000 | 59,12±20,25 | сильная |
| 20000 | 0 | не токсично |
| 40000 | 0 | не токсично |
| 200000 | 0 | не токсично |
| 4·10 ⁷ | 0 | не токсично |
| 4·10 ¹⁰ | 0 | не токсично |
| 4·10 ¹³ | 18,51±7,49 | не токсично |
| 4·10 ¹⁶ | 0 | не токсично |

Оценка токсичности растворов реакционной массы по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла

| Кратность разведения р-ра реакционной массы | Результаты анализа (оптическая плотность) | Отклонение от контроля, % | Степень токсичности |
|---|---|---------------------------|---------------------|
| | 0,205±0,010 (контроль) | | гипертоксично |
| 200 | 0,005±0,002 | 98 | |
| 600 | 0,005±0,002 | 98 | |
| 1800 | 0,005±0,002 | 98 | |
| 5400 | 0,005±0,002 | 98 | |
| 16200 | 0,147±0,005 | 28 | |
| | 0,276±0,010 (контроль) | | среднетоксично |
| 2000 | 0,010±0,000 | 96 | |
| 6000 | 0,048±0,003 | 83 | |
| 18000 | 0,242±0,010 | 12 | |
| 54000 | 0,245±0,004 | 11 | |
| 162000 | 0,251±0,004 | 9 | |
| | 0,150±0,007 (контроль) | | не токсично |
| 20000 | 0,138±0,005 | 8 | |
| 60000 | 0,149±0,005 | 1 | |
| 180000 | 0,150±0,004 | 0 | |
| 540000 | 0,152±0,008 | -1 | |
| 1620000 | 0,151±0,007 | -1 | |

менению оптической плотности культуры водоросли хлорелла. Установлено, что разведение в 20000 раз не оказывает токсического действия. Средняя токсичность обнаружена у раствора реакционной массы с разведением в 2000 раз. Гипертоксичным являлся раствор с разведением в 200 раз.

Данные о влиянии растворов на хемотаксическую реакцию инфузорий приведены в табл. 6. Высокая степень токсичности обнаружена у растворов реакционной массы с разведениями в 10000, 20000 и 40000 раз.

Известно, что биологически активные вещества могут влиять на живые организмы в малых

и сверхмалых дозах [1, 7]. Нами обнаружена умеренная степень токсичности только у раствора реакционной массы с разведением в $4 \cdot 10^{13}$ раз при биотестировании на инфузориях. Исследование других разведений раствора реакционной массы не выявило каких-либо эффектов на бактерии и инфузории.

Сравнительный анализ чувствительности к раствору реакционной массы показал, что наиболее чувствительным тест-объектом являются инфузории. По-видимому, это связано с высокой аффинностью хеморецепторов этого одноклеточного животного к люизитной реакционной массе. В ходе биотестирования наблюда-

Определение острой токсичности растворов реакционной массы по хемотаксической реакции инфузорий

| Кратность разведения р-ра реакционной массы | Индекс токсичности, T (y.e.) | Степень токсичности |
|---|------------------------------|---------------------|
| 10000 | 0,88±0,01 | высокая |
| 20000 | 0,99±0,00 | высокая |
| 40000 | 0,79±0,01 | высокая |
| $4 \cdot 10^{13}$ | 0,45±0,03 | умеренная |
| $4 \cdot 10^{16}$ | 0,33±0,04 | допустимая |

Результаты оценки токсичности растворов реакционной массы по смертности цериодафний, полученные после полуторачасовой выдержки при температуре 36°С

| Кратность разведения р-ра реакционной массы | Гибель, % | Оценка токсичности | |
|---|-----------|--------------------------------|---------------------------------|
| | | летальная кратность разведения | безвредная кратность разведения |
| 4000 | 100 | 33333 | 125000 |
| 20000 | 80 | | |
| 40000 | 30 | | |
| 100000 | 20 | | |

лась выраженная хемотаксическая реакция, которая регистрировалась нами с помощью прибора Биотестер-2. Следовательно, при проведении биомониторинга зоны влияния заводов по уничтожению люизита целесообразно в первую очередь использовать именно этот тест-организм. Среди достоинств методики можно отметить быстроту проведения экотоксикологического анализа (около двух часов), что имеет принципиальное значение в процессе мониторинга опасного промышленного объекта.

Биотестирование на цериодафниях при повышенной температуре исследуемых растворов (разведения в 4000, 20000, 40000, 100000 раз) проводили в течение 1,5 ч. Полученные результаты представлены в табл. 7. Острое токсическое действие на цериодафний оказали разведения реакционной массы в 4000 раз (100% гибель особей), в 20000 раз (80% гибель). Более низкие концентрации реакционной массы не вызвали острого токсического эффекта. Таким образом, чувствительность цериодафний к реакционной массе при повышении температуры культивационной среды выше, чем дафний, которые содержатся при комнатной температуре. Экспресс-методику определения токсичности при повышении температуры культивационной среды также можно рекомендовать для биотестирования качества природных сред в зоне влияния заводов по уничтожению люизита. В доступной литературе мы не обнаружили сведений о влиянии раствора люизитной реакционной массы на дафнии, хлореллу, люминесцентные бактерии и инфузории.

Выводы. 1. При исследовании влияния растворов люизитной реакционной массы на смертность дафний установлено, что разведения от 10000 и ниже оказывают острое токсическое действие. Безвредная кратность разбавления равна 100000. Достоверное влияние на двигательную активность дафний после 24 ч экспозиции оказало разведение реакционной массы в 10000 раз.

2. Хроническое токсическое действие на цериодафнии оказывают разведения реакционной массы в 62500 и в 20000 раз; безвредная кратность разбавления равна 200000.

4. Острое токсическое действие на бактерии оказывают растворы реакционной массы с разведением в 200–10000 раз.

5. Согласно данным о влиянии растворов на хемотаксическую реакцию инфузорий высокая степень токсичности обнаружена у растворов реакционной массы с разведениями в 10000, 20000 и 40000 раз.

6. Обнаружена умеренная токсичность у раствора реакционной массы с разведением в $4 \cdot 10^{13}$ раз при биотестировании на инфузориях. Исследование других низких концентраций раствора реакционной массы не выявило каких-либо эффектов на бактерии и инфузории.

7. Установлено, что разведение в 20000 раз не оказывает токсического действия на рост хлореллы. Средняя токсичность обнаружена у раствора реакционной массы с разведением в 2000 раз. Гипертотоксичным являлся раствор с разведением в 200 раз.

8. При повышении температуры культивационной среды чувствительность цериодафний к действию токсиканта повышается. Острое токсическое влияние на цериодафнии при повышенной температуре оказывали разведения раствора реакционной массы в 20000 и в 4000 раз. Безвредная кратность разбавления равна 125000.

9. Сравнительный анализ чувствительности различных организмов к раствору реакционной массы показал, что наиболее чувствительным тест-объектом являются инфузории. Поэтому этот тест-объект перспективно использовать в процессе оценки качества природных сред в зоне влияния заводов по переработке люизита.

Список литературы

1. *Бурлакова Е.Б. Эффект сверхмалых доз // Вести РАН, 1994. — Т. 64. — № 5. — С. 425-431.*

2. *Белов Ю.А., Никифоров Г.Е., Хохлов Р.В. и др. Переработка реакционной массы от детоксикации люизита в арсенит натрия гидролизный // Проблемы уничтожения и утилизации ОМП, 2006. — № 2. — С. 16-19.*

3. *Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. — Л.: Медицина, 1973. — 141 с.*

4. Григорьев Ю.С. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла. — Красноярск: КГУ, 2004. — 19 с.

5. Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. — М.: Акварос, 2001. — 48 с.

6. Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. — М.: Акварос, 2001. — 52 с.

7. Зайцев С.В., Ефанов А.М., Сазанов Л.А. Общие закономерности и возможные механизмы действия биологически активных веществ в сверхма-

лых дозах // Рос. хим. журнал, 1999. — Т. XLIII. — № 5. — С. 28-33.

8. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм». — М.: МПР РФ, 2004. — 16 с.

9. Методика определения токсичности проб вод (природных, хозяйственно-питьевых, промышленных сточных) экспресс-методом с применением прибора «Биотестер». — СПб: Спектр-М, 2005. — 13 с.

10. Davenas E. et al. Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE // Nature, 1988. — V. 333. — № 6176. — P. 816-818.

Переработанный экз. материалов
поступил в редакцию 16.05.07.

V.N.Chupis, Ye.A.Lushchay, I.N.Larin, A.A.Zagrekov, Ye.V.Ilyina, D.Ye.Ivanov

TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF REACTION MASSES FORMED AT DETOXICATION OF LEWISITE

Institute of Industrial Ecology, Saratov

Acute and chronic toxicity of differently diluted reaction masses formed at the destruction of Lewisite in infusoria, luminescent bacteria, Chlorella, Daphnia, Ceriodaphnia was studied. The results presented showed that when the temperature of the cultivation medium rises, the sensibility of ceriodaphnia to the effect of toxicants increases. The effect of differently diluted reaction masses on Daphnia motor activity and Ceriodaphnia fertility was studied. A lethal and harmless dilution multiplicity factor of the reaction mass solutions was estimated for Daphnia and Ceriodaphnia.

УДК 615.9.036.11.07:616.153.074

Э.Р.Нагиев, М.С.Сейфаддинова, Ф.Э.Исмаилова

КАТАБОЛИЗМ И РЕУТИЛИЗАЦИЯ АДЕНИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ГАЗОКОНДЕНСАТОМ

Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала

Представлены результаты исследований активности ключевых ферментов катаболизма и реутилизации адениловых нуклеотидов (АМФ-дезаминазы, 5'-нуклеотидазы и аденилаткиназы) в сыворотке крыс, подвергнутых однократному отравлению газоконденсатом. Наиболее выраженные изменения активности ферментов наблюдались на 5–10 сутки после отравления. Выявлено повышение активности АМФ-дезаминазы и прямой аденилаткиназы, активность 5'-нуклеотидазы снижалась.

Ключевые слова: адениловые нуклеотиды, АМФ-дезаминаза, 5'-нуклеотидаза, аденилаткиназа, газоконденсат.

Введение. Ежегодно в атмосферу выбрасывается 2,5 млн. тонн нефти и нефтепродуктов, около 6 млрд. м³ попутного нефтяного газа сжигается в факелах. Согласно экспертным данным, на нефтепромыслах теряется в общей сложности до 3,5% всей добываемой сырой нефти (с учетом нефтяных газов). Сейчас утилизируется в среднем около 70% газов, поступающих из скважин с нефтью, а остальные 30% сжигаются на факелах и частично испаряются в атмосферу [1, 6].

В связи с этим возрастает актуальность проблемы воздействия нефти, нефтепродуктов, в том числе и газового конденсата (в условиях массового загрязнения среды ими) на обменные процессы организма.

Наше исследование посвящено одной из актуальных проблем экологической и токсикологической биохимии — проблеме острой интоксикации. В настоящее время, в связи с возрастающим объемом промышленных выбросов углево-

дородов в окружающую среду на первый план выдвигается задача изучения реактивности организма. Изменение реактивности – и есть проявление начальных сдвигов возникающих в организме. Обнаружение этих сдвигов может помочь в ранней диагностике интоксикации. А это требует рассмотрения проблемы воздействия ксенобиотиков, в частности углеводов, на физиологические и метаболические процессы, протекающие в организме животных и человека.

Возможно нарушение метаболических процессов в тканях, а также преобладание катаболических процессов над пластическими при воздействии токсикантов обусловлено нарушениями энергетического обмена.

Таким образом, несомненный интерес представляет изучение процессов катаболизма и реутилизации адениннуклеотидов в динамике острого отравления углеводородами, в частности газоконденсатом, представляющим собой смесь высококипящих углеводородов и углеводородов метан-бутановой фракции.

В связи с этим целью настоящего исследования было изучение ферментов лимитирующих катаболизм адениловых нуклеотидов – АМФ-дезаминазы и 5'-нуклеотидазы и ферментов реутилизации – прямой и обратной аденилаткиназы в сыворотке крови крыс до и после отравления газоконденсатом.

Материал и методы исследований. Исследования проводили на половозрелых беспородных лабораторных крысах обоего пола, средней массой 190–200 г. Подопытных животных, как и контрольных, содержали в одинаковых стандартных условиях вивария на полноценном пищевом рационе [4]. Острое отравление газовым конденсатом вызывали путем однократного, перорального введения токсиканта предварительно наркотизированным животным (калипсол). Газовый конденсат растворяли в дистиллированной воде 1:1 и вводили экспериментальным крысам в желудок через зонд в количестве 1 мл газоконденсата на 100 г массы животного. Контрольным крысам вводили эквивалентное количество дистиллированной воды.

Все процедуры (отравление, декапитация и взятие материала для исследования) выполняли спустя 14–16 ч после дачи корма. Забой животных во всех случаях исследований осуществляли между 12 и 16 ч дня. Опыты проводили через 1 час, 1, 5, 10 и 15 суток после введения токсиканта.

Подсчет количества эритроцитов и лейкоцитов производили под микроскопом в счетной камере Горяева с последующим пересчетом на 1 л крови, исходя из объема подсчитываемых квадратов и разведения крови [5]. Количество от-

дельных видов лейкоцитов (лимфоциты, моноциты и нейтрофилы) высчитывали по лейкоцитарной формуле. Лейкоцитарную формулу подсчитывали в окрашенных мазках крови под микроскопом с иммерсионной системой [2, 5].

Активность АМФ-дезаминазы определяли спектрофотометрическим методом, основанным на уменьшении оптической плотности раствора при 265 нм после дезаминирования АМФ до ИМФ [9]. Активность 5'-нуклеотидазы – фотоэлектроколориметрическим методом, оценивали по приросту неорганического фосфата при 630 нм [11]. Активность прямой аденилаткиназной реакции определяли по интенсивности образования АДФ в системе, сопряженной с пируваткиназной и лактатдегидрогеназной реакциями [12]; активность обратной аденилаткиназной реакции определяли по интенсивности образования АТФ в системе, сопряженной с гексокиназной и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной реакциями [13].

Количество белка в пробах определяли микробиуретовым методом [3], используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин. Результаты исследования подвергали статистической обработке при использовании методов вариационной статистики [10].

Результаты и обсуждение. Экспериментальные исследования проводили в двух основных направлениях: исследовали обмен адениловых нуклеотидов в сыворотке, а также общеклинические эффекты при воздействии на организм газоконденсатной смеси.

Наиболее выраженные изменения в поведении животных, летальности, изменении массы тела, гематологических показателей наблюдались в сроки с 5-х по 10-е сутки. К примеру, в эти сроки наиболее выражено изменяется уровень форменных элементов крови, что проявляется в уменьшении количества эритроцитов и лейкоцитов. Вероятно, это связано с нарушением перераспределения лейкоцитов между циркулирующим и марганальным пулами на первых этапах, а в последующем – с усиленным разрушением клеток крови или с нарушением регуляции кроветворения под воздействием токсиканта (табл. 1).

Основываясь на этих наблюдениях, катаболизм и реутилизацию исследовали в те же сроки, когда наблюдались наиболее выраженные изменения интегральных показателей.

В сыворотке крови крыс в норме активность 5'-нуклеотидазы выше активности АМФ-дезаминазы и активности аденилаткиназы. Активность прямой аденилаткиназы выше активности обратной в сыворотке крови крыс в норме. Внесение в среду инкубации АТФ способствовало

**Эритроциты, лейкоциты, нейтрофилы, лимфоциты и моноциты в крови крыс,
отравленных газовым конденсатом (в 1 л крови; $M \pm m$; $n = 10$)**

| Время после отравления | Эритроциты | Лейкоциты | Нейтрофилы | Лимфоциты | Моноциты |
|------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Контроль | $4,17 \cdot 10^{12} \pm 0,63$ | $10,44 \cdot 10^9 \pm 0,42$ | $3,38 \cdot 10^9 \pm 0,29$ | $6,50 \cdot 10^9 \pm 0,34$ | $0,344 \cdot 10^9 \pm 0,041$ |
| 1 час | $4,25 \cdot 10^{12} \pm 0,09$ | $9,69 \cdot 10^9 \pm 0,13$ | $3,44 \cdot 10^9 \pm 0,08$ | $4,61 \cdot 10^9 \pm 0,07$ | $0,333 \cdot 10^9 \pm 0,011$ |
| 5 сут | $3,83 \cdot 10^{12} \pm 0,03$ | $4,81 \cdot 10^9 \pm 0,22^*$ | $2,75 \cdot 10^9 \pm 0,12^*$ | $3,84 \cdot 10^9 \pm 0,17^*$ | $0,308 \cdot 10^9 \pm 0,012$ |
| 10 сут | $3,38 \cdot 10^{12} \pm 0,10^*$ | $6,46 \cdot 10^9 \pm 0,21^*$ | $3,23 \cdot 10^9 \pm 0,11$ | $3,08 \cdot 10^9 \pm 0,12^*$ | $0,328 \cdot 10^9 \pm 0,014$ |
| 15 сут | $4,06 \cdot 10^{12} \pm 0,14$ | $8,50 \cdot 10^9 \pm 0,44$ | $3,27 \cdot 10^9 \pm 0,88$ | $4,46 \cdot 10^9 \pm 0,33$ | $0,352 \cdot 10^9 \pm 0,024$ |
| 30 сут | $4,28 \cdot 10^{12} \pm 0,21$ | $11,44 \cdot 10^9 \pm 0,43$ | $3,76 \cdot 10^9 \pm 0,14$ | $7,34 \cdot 10^9 \pm 0,46$ | $0,401 \cdot 10^9 \pm 0,013$ |

Примечание: здесь и далее * – $p < 0,05$ по отношению к контролю

снижению активности АМФ-деаминазы и повышению активности 5'-нуклеотидазы.

АМФ-деаминазная активность в отсутствие АТФ повышается только на 5-е сутки после отравления почти в 1,4 раз по сравнению с контролем. В последующие сроки после отравления активность этого фермента спадает. В присутствии АТФ активность этого же фермента повышается уже на первые сутки после отравления газоконденсатом, максимальная активность, которой, приходится на 10-е сутки после отравления и превышает контрольных значений почти в 1,7 раз (рис. 1, 2, табл. 2).

В противоположность АМФ-деаминазе, активность 5'-нуклеотидазы при отравлении газоконденсатом, снижается. В отсутствие АТФ активность 5'-нуклеотидазы уже на первый час после отравления снижается на 37% по сравнению контролем, а в присутствии АТФ максимальное снижение активности наблюдается на 1-е сутки, почти на 38% ниже контрольных значений (рис. 1, 2, табл. 2).

В норме в печени крыс, так же как и в сыворотке крови активность вышеназванных ферментов иногда проявляет себя сходным образом. К примеру, в этих тканях в норме АМФ-деаминазная активность значительно ниже активности 5'-нуклеотидазы [8]. При отравлении газоконденсатом наблюдается снижение 5'-нуклео-

тидазной активности во фракции митохондрий печени крыс и повышение в постмитохондриальном супернатанте. Активность АМФ-деаминазы в печени крыс при отравлении газоконденсатом повышается [7].

Активность прямой аденилаткиназы после отравления газоконденсатом повышается с максимумом активности на 1-е сутки после отравления, превышая величины контрольной активности почти в 2 раза (рис. 1). Активность обратной аденилаткиназы в динамике острого отравления газоконденсатом изменяется менее выражено, чем активность других исследованных ферментов (рис. 2).

В более поздние сроки после отравления наблюдается тенденция к нормализации активности всех выше названных ферментов.

Угнетение 5'-нуклеотидазы на 1-й час после отравления может повлечь сначала накопление АМФ, который тут же будет вовлекаться в прямую аденилаткиназную реакцию для реутилизации АДФ, максимальная интенсивность которой наблюдается на 1-е сутки после отравления (на 86% превышая исходную интенсивность). Часть АМФ продолжает катаболизироваться через дезаминирование, интенсивность которого максимально увеличивается на 5-е сутки после отравления. Это может способствовать нако-

**Активность АМФ-деаминазы, 5'-нуклеотидазы и аденилаткиназы в сыворотке крови
при отравлении газоконденсатом**

(мкг АМФ/мл сыворотки, мкг Рi/мл сыворотки, мкмоль НАДН (или НАДФ+)/мл сыворотки, $M \pm m$; $n = 8$)

| Время после отравления | АМФ-деаминаза | | 5'-нуклеотидаза | | Аденилаткиназа | |
|------------------------|-------------------|-----------------|--------------------|--------------------|-------------------|-----------------|
| | без АТФ | с АТФ | без АТФ | с АТФ | прямая | обратная |
| Контроль | $5,55 \pm 0,19$ | $3,76 \pm 0,23$ | $29,47 \pm 0,83$ | $42,70 \pm 1,43$ | $0,98 \pm 0,08$ | $0,51 \pm 0,04$ |
| 1 час | $5,53 \pm 0,18$ | $3,79 \pm 0,23$ | $18,57 \pm 0,92^*$ | $29,88 \pm 1,57^*$ | $0,95 \pm 0,08$ | $0,49 \pm 0,04$ |
| 1 сут | $5,55 \pm 1,02$ | $5,28 \pm 0,63$ | $21,82 \pm 2,05^*$ | $26,09 \pm 2,50^*$ | $1,83 \pm 0,21^*$ | $0,53 \pm 0,02$ |
| 5 сут | $7,70 \pm 0,91^*$ | $5,63 \pm 0,57$ | $27,67 \pm 1,01$ | $41,67 \pm 2,91$ | $1,64 \pm 0,24^*$ | $0,50 \pm 0,03$ |
| 10 сут | $4,54 \pm 0,74$ | $6,23 \pm 0,42$ | $31,60 \pm 1,36$ | $44,85 \pm 0,68$ | $1,12 \pm 0,13$ | $0,52 \pm 0,03$ |
| 15 сут | $4,59 \pm 0,12$ | $5,91 \pm 0,40$ | $33,16 \pm 1,32$ | $41,93 \pm 2,11$ | $1,03 \pm 0,09$ | $0,54 \pm 0,04$ |

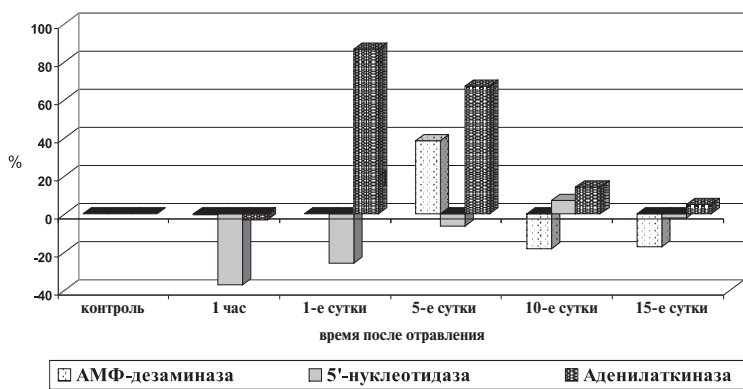


Рис. 1. Активность АМФ-дезаминазы (без АТФ), 5'-нуклеотидазы (без АТФ) и аденилаткиназы (прямая реакция) в сыворотке крови крыс

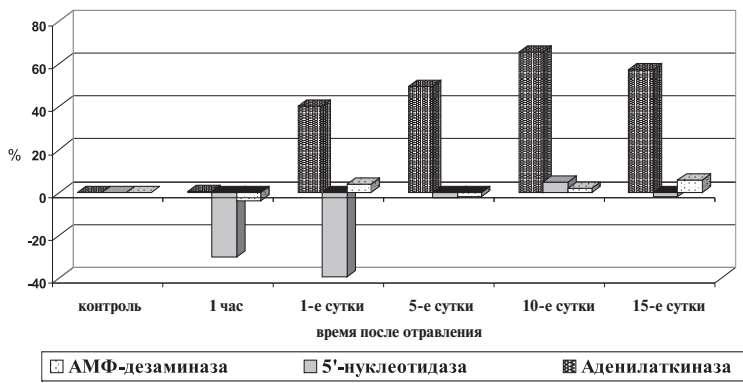


Рис. 2. Активность АМФ-дезаминазы (с АТФ), 5'-нуклеотидазы (с АТФ) и аденилаткиназы (обратная реакция) в сыворотке крови крыс

плению ИМФ, являющимся предшественником самого АМФ и других пуриновых нуклеотидов. Возможно, этим и объясняется достаточно высокая интенсивность прямой аденилаткиназной реакции на 5-е сутки после отравления.

Таким образом, клетка стремится восполнить запас АТФ, израсходованной при воздействии токсиканта, через реутилизацию в прямой аденилаткиназной реакции.

Список литературы

1. **Грачев В.А., Ахметханов С.М.** Основные экологические проблемы нефтегазового комплекса России // Доклады международного экологического конгресса «Новое в экологии и безопасности жизнедеятельности». — СПб.: Изд-во БГТУ, 2000. — С. 418–421.

2. **Кост Е.А.** Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. — М.: Медицина, 1975. — 382 с.

3. **Кочетов Г.А.** Практическое руководство по энзимологии. — М.: Высшая школа, 1980. — 272 с.

4. **Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. и др.** Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. — Киев: Вища школа, 1983. — 383 с.

5. **Луговская С.А., Морозова В.Т., Почтарь М.Е.** Лабораторная гематология. — М.: ЮНИМЕД, 2002. — 116 с.

6. **Мелкоян Р.Г.** Экологические проблемы восстановления нефтегазового комплекса Чеченской республики // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе, 2001. — № 3–4. — С. 39–42.

7. **Нагиев Э.Р., Евсеева С.Н., Сейфадинова М.С.** Воздействие экстремальных факторов на метаболизм и некоторые пути направленной коррекции // Экология промышленного производства — межотр. науч.-практ. журнал, 2005. — Вып. 1. — С. 49–51.

8. **Нагиев Э.Р., Сейфадинова М.С., Сыпченко В.И.** Активность ключевых ферментов обмена адениловых нуклеотидов в печени крыс // Материалы VII-й междунар. конф. «Циклы». — Ставрополь, 2005. — Т. 3. — С. 162–164.

9. **Пеккель В.А.** Аденилатдезаминаза тканей животных // Успехи современной биологии, 1980. — Т. 89. — № 3. — С. 377–393.

10. **Реброва О.Ю.** Статистический анализ медицинских данных. — М.: Издательство Медиа Сфера, 2002. — 312 с.

11. **Скулачев В.П.** Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. — М.: Изд. АН СССР, 1962. — 152 с.

12. **Шестакова С.А.** Содержание компонентов адениловой системы и активность аденилаткиназы в лейкоцитах экссудата кроликов // Укр. биохим. журнал, 1972. — Т. 44. — № 3. — С. 369–371.

13. **Lamprecht W., Trautshold I.** Methods of Enzymatic Analysis. — London: Acad. Press, 1963. — 543 p.

Материал поступил в редакцию 23.03.07.

E.R.Nagiyev, M.S.Seyfadinova, F.E.Ismailova

CATABOLISM AND REUTILIZATION OF ADENILE NUCLEOTIDES IN RATS BLOOD SERUM AT ACUTE POISONING BY GAS CONDENSATE

State Medical Academy of Dagestan, Makhachkala

Are presented results of the study on activity of key enzymes of catabolism and reutilization of adenile nucleotides (AMP-deaminase, 5'-nucleotidase, adenylyl kinase) in the serum of rats one-time poisoned by the gas condensate. The most expressive changes in the activity of enzymes were noticed on the 5th to 10th days after poisoning. An increasing activity of AMP-deaminase and direct adenylyl kinase were observed, while the activity of 5'-nucleotidase lowered.

УДК 615.917'26

В.А.Суханов, А.Н.Саприн, Е.В.Калинина, Т.Ю.Федорова, Л.А.Пирузян

ВЛИЯНИЕ ФЕНОТИПА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ У НЕЛИНЕЙНЫХ ЖИВОТНЫХ НА ИХ ВОСПРИИМЧИВОСТЬ К ТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

Показано, что популяция нелинейных крыс может быть разделена на несколько фенотипов по результатам анализа метаболизма карбамазепина (Кбз). Биотрансформация Кбз проходит, в основном, по эпоксид-диольному пути, как и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) типа бенз(а)пирена (БП), то есть Кбз может являться маркером токсического и канцерогенного действия ПАУ. По результатам фенотипирования нелинейные крысы были разделены на 3 группы: «слабых, средних и активных метаболизаторов». Группа «активных метаболизаторов» была наиболее устойчивой к воздействию БП, как по острой токсичности, так и в отдаленные сроки (6,5 мес.).

Ключевые слова: фенотипирование, генотипирование, токсикология, полициклические ароматические углеводороды.

Введение. Одной из проблем современной фармакологии является индивидуальная чувствительность к действию лекарственных средств, определяющая их терапевтическую эффективность и развитие нежелательных побочных явлений. Широкая вариабельность действия химиотерапевтических препаратов зависит от фeno- или генотипа конкретного индивидуума, и связана, прежде всего, с особенностями и состоянием системы ферментов метаболизма и детоксикации ксенобиотиков (ФМДК) [1-12]. Определение фeno- (гено) типа особенно важно проводить в случае использования высокотоксичных химиотерапевтических средств, например, цитостатиков, широко применяемых при лечении различных онкологических заболеваний. Кроме того, высокая загрязненность окружающей среды поллютантами, требует проведения оценки их опасности для человека с учетом индивидуальной чувствительности к их токсическому, мутагенному и канцерогенному действию. Поэтому разработка современных методов прогнозирования развития различных заболеваний, в том числе онкологических, является необходимой и важной задачей. Ранее было показано, что эпоксид-диольный путь метаболических превращений проканцерогенов – полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) является наиболее опасным звеном, определяющим их токсичность и канцерогенность [1, 3-5, 13]. Наши исследования показали, что при этом важно оценивать соотношение эпоксид-синтетазной активности цитохрома P-450 (ЭС) и активности эпоксидгидратазы (ЭГ), а также учитывать гидроксилазную активность цитохрома P-450 и суммарную ак-

тивность микросомальных изоформ глутатион-S-трансферазы. На основании этих данных, по активностям ферментов, нами был предложен так называемый «условный критерий метаболического статуса организма» (УКМСО) [4, 5]. Была продемонстрирована эффективность применения УКМСО в качестве прогностического критерия оценки риска развития различных патологий и важность близости значений УКМСО между донором и реципиентом в трансплантологии при пересадке полнослойных лоскутов кожи [14, 15]. Недостатком данного подхода является необходимость в заборе биопсийного материала. Более перспективными методами фeno- и генотипирования могут быть прижизненные методы, основанные на измерении фармакокинетических параметров метаболизма специальных маркеров-зондов и изучении полиморфизма ФМДК методом ПЦР с использованием праймеров на полиморфные участки ФМДК. Известно, что в процессах метаболического окисления – гидроксилирования принимают участие такие наиболее распространенные изоформы цитохрома P-450 (СУР) как СУР1А1, СУР1А2, СУР3А4 и некоторые другие, с более выраженной субстратной специфичностью [16–19]. Однако изоформы цитохрома, участвующие в процессах эпоксидирования, фактически не изучены. В данной работе проведена оценка применимости метода метаболического зондирования для прогностических целей и показана его эффективность при моделировании связи генотипа метаболического окисления с устойчивостью к токсическому и мутагенному воздействию ПАУ на фенотипированных нелинейных животных.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили на половозрелых самцах нелинейных белых крыс массой 80–100 г. Животные находились в стандартных условиях вивария и на стандартном корме.

Фенотипирование проводили на 60 животных путем перорального введения 0,2 г карбамазепина (Кбз). Животных помещали в обменные клетки, в которых собиралась моча на сроки 6, 12 и 24 ч. Замерялся объем выделенной мочи, отбирали по 0,5 мл из каждого объема, добавляли 0,5 мл 0,1 М Na-ацетатного буфера, pH 4,5 и по 50 мкл (или иное количество – в зависимости от активности) готовой смеси ферментов – глюкоксидазы и арилсульфатазы («Серва», Германия), для разрушения соответствующих конъюгатов. Разделение и анализ метаболитов проводили методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии с использованием Линомата и Сканера («Камаг», Швейцария), интегратора SP 4100 («НР», США) и высокоэффективных хроматографических пластинок без флюоресцентного индикатора («Мерк», Германия), как это описано ранее [20, 21]. Определяли количество выделившихся к определенному времени Кбз-10,11-эпоксида, Кбз-10,11-диола и свободного Кбз. Оценивали сумму образовавшихся метаболитов по отношению к исходному Кбз.

Фенотипированным животным, спустя 7 дней, вводили в/бр бенза(а)пирен в подострой дозе 50 мг/кг или иной – как это описано в следующем разделе статьи. Животные находились под наблюдением до 6,5 месяцев, в течение ко-

торых фиксировали их смертность, проводили патолого-анатомическое вскрытие и морфологическое изучение органов и тканей. Оставшихся в живых к этому сроку крыс забивали, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» МЗ РФ.

Результаты и обсуждение. В качестве метаболического зонда нами был выбран разрешенный к применению в медицине антиконвульсант – карбамазепин (Кбз), метаболизм которого у млекопитающих проходит, в основном, по эпоксид-диольному пути. Известно, что при биотрансформации Кбз наиболее активными метаболитами являются арен-оксиды и хиноны [21, 22]. Недавно, косвенно, по ингибированию изоформ CYP, было показано, что формы CYP2C11, CYP3A, CYP1A1/2, CYP2B1/2 в микросомах печени крыс, а также изоформы CYP2D6, CYP2C8, CYP2C9 и CYP3A4 в микросомах печени человека, фактически не участвуют в метаболизме Кбз. Наиболее реакционно-способные метаболиты Кбз образуются на изоформах CYP2D у крыс и CYP1A2 – у человека [23, 24]. Видимо, эти же изоформы CYP являются основными, принимающими участие в образовании эпоксидов. С целью выявления возможных индивидуальных различий по образованию и метаболизму эпоксидов и диолов Кбз, мы провели фенотипирование 60 нелинейных белых крыс. Результаты фенотипирования представлены на рис. 1. Из представленных на гистограмме данных видно, что нелинейные белые крысы об-

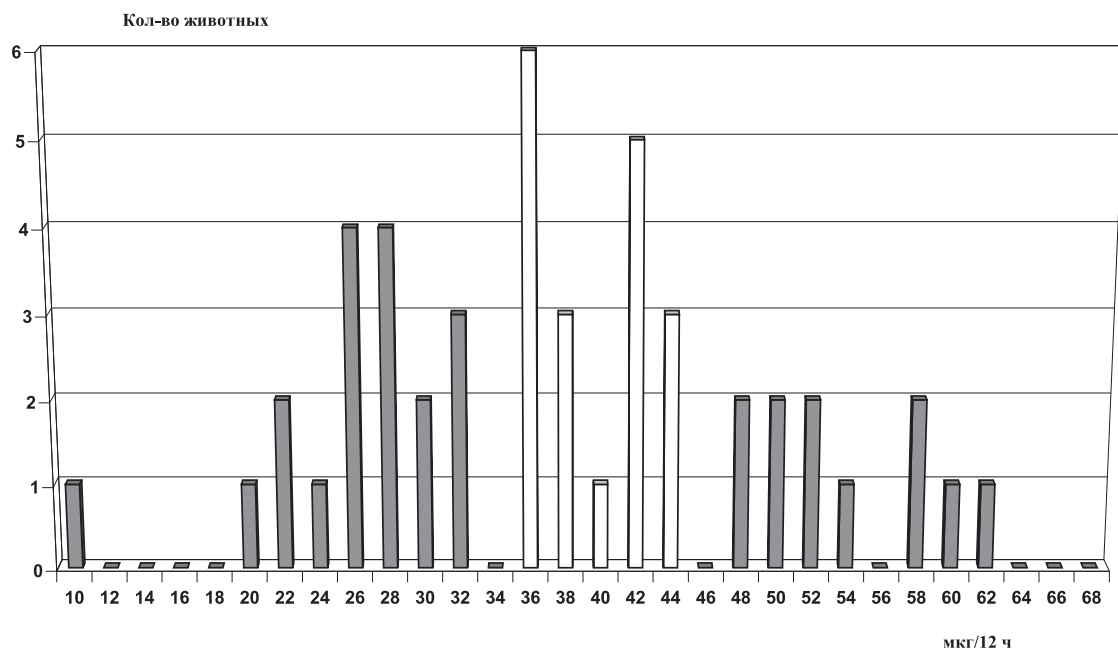


Рис. 1. Гистограмма распределения белых, нелинейных крыс по их способности экскретировать метаболиты карбамазепина (сумма эпоксидов и диолов за 12 ч). Подробности в тексте статьи

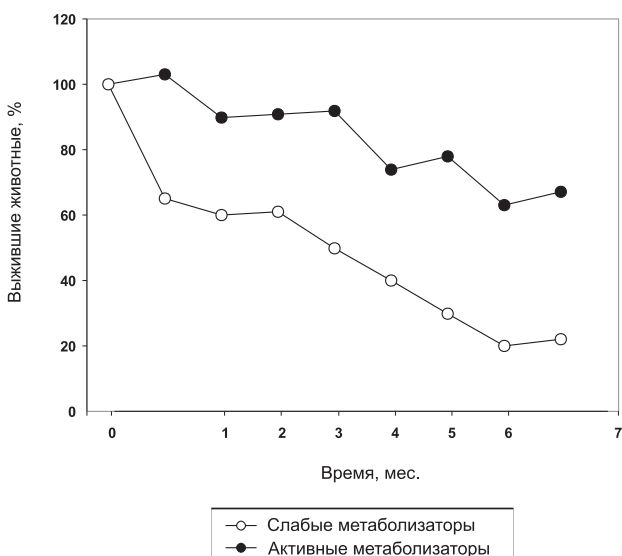


Рис. 2. Динамика устойчивости к бенз(а)пирену фенотипированных крыс — «слабых» и «активных метаболизаторов»

ладают разной индивидуальной метаболической активностью, с образованием от 10 до 62 мкг эпоксидов и диолов Кбз в сумме на 12 ч от времени введения Кбз. В зависимости от этой метаболической активности животные были разделены на 3 группы: «слабые метаболизаторы» — с активностью менее 32 мкг/12 ч, «средние метаболизаторы» — с активностью от 36 до 44 мкг/12 ч, и «активные метаболизаторы» — экскретирующие более 48 мкг/12 ч. На группе «средних метаболизаторов» была определена приблизительная летальная доза (DL_{50}) для бенз(а)пирена (БП) при внутрибрюшинном введении, которая была выше 50 мг/кг (50 мг/кг — 0/6, 100 мг/кг — 3/6, 150 мг/кг — 5/6 погибших животных на 14 день). Оставшимся животным (группы «слабых» и «активных метаболизаторов») был в/бр введен БП в дозе 50 мг/кг на 7 день после фенотипирования. Животные находились под наблюдением в течение 6,5 месяцев. Динамика устойчивости к БП представлена на рис. 2. Эти данные показывают, что группа «активных метаболизаторов» более устойчива к действию БП как по острой токсичности (на 14 дней), так и на отдаленные сроки. В первые 2 недели погибло 33% «слабых метаболизаторов», в то время как среди «активных метаболизаторов» гибели животных не наблюдалось. Спустя 6,5 мес. в группе «активных метаболизаторов» осталось 66% выживших животных. В группе «слабых метаболизаторов» через 6,5 мес. осталось всего 17% выживших особей. Патолого-анатомический анализ погибших животных выявил изменения селезенки и почек, увеличение печени, гипертрофию мочевого пузыря — на ранние сроки, гипертрофию селезенки,

опухоль тимуса, точечные образования печени и брызжейки, опухоли лимфоузлов — на более отдаленные сроки. Среди выживших к 6,5 мес. животных эти изменения в группе «активных метаболизаторов» были выражены значительно слабее, а у 3 особей вообще не наблюдалось каких-либо изменений.

Заключение. Полученные данные показывают, что индивидуальные особенности метаболических процессов окисления ПАУ определяют их токсичность и канцерогенность — чем выше метаболическая активность индивидуума, тем меньше вероятность развития токсических и канцерогенных эффектов. Индивидуальное, прижизненное фенотипирование с помощью безопасных «метаболических зондов» позволяет прогнозировать риск развития нежелательных последствий, в том числе проявления побочного действия лекарственных средств. По результатам метаболического зондирования любая популяция животных, в том числе нелинейная, может быть разделена и отнесена к тем или иным фенотипам, определяющим их устойчивость по отношению к различным ксенобиотикам.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ по гранту № 05-04-49799 и Программы научных исследований РАН «Фундаментальные науки — медицине».

Список литературы

1. *Pharmacogenomics. The Search for Individualized Therapies* (Licinio J., Wong M., eds.). Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany; 2002. — 559 с.
2. **Пирузян Л.А.** О фармакологической метрологии // *Изв. АН СССР. Сер. биол.*, 1990. — № 2. — С. 302-304.
3. **Пирузян Л.А., Суханов В.А., Саприн А.Н.** Прогностический фактор риска развития патологических процессов, основанный на полиморфизме ферментов метаболизма ксенобиотиков // *Физиол. чел.*, 2000. — Т. 26. -№ 2. — С. 115-123.
4. **Пирузян Л.А., Суханов В.А., Калинина Е.В. и др.** Медико-биологические аспекты метаболического портретирования // *ДАН*, 2001. — Т. 377. — С. 129-131.
5. **Пирузян Л.А., Суханов В.А., Калинина Е.В. и др.** Ферментная система метаболизма и детоксикации ксенобиотиков как основа метаболического портретирования при прогнозировании риска развития патологических процессов // *Изв. АН. Сер. биол.*, 2002. — № 2. — С. 149-154.
6. **Пирузян Л.А., Михайловский Е.М.** Метаболическое организменное популяционное конструирование онкологической патологии при генетической предрасположенности индивидуумов. Сообщение I // *Физиол. чел.*, 2001. — Т. 27. — № 3. —

С.113–121.

7. **Пирузян Л.А., Михайловский Е.М.** Метаболическое организменное популяционное конструирование онкологической патологии при генетической предрасположенности индивидуумов. Сообщение II // Там же, 2002. – Т. 28. – № 1. – С. 101–115.

8. **Пирузян Л.А., Михайловский Е.М.** Метаболическое организменное популяционное конструирование онкологической патологии при генетической предрасположенности индивидуумов. Сообщение III // Там же, 2002. – Т. 28. – № 5. – С.103–111.

9. **Пирузян Л.А., Михайловский Е.М.** Метаболическое организменное популяционное конструирование онкологической патологии при генетической предрасположенности индивидуумов. Сообщение IV // Там же, 2003. – Т. 29. – № 2. – С. 118–126.

10. **Пирузян Л.А., Радкевич Л.А., Морозова Н.В.** Метаболическое этническое портретирование в стратегии подбора фармакотерапии на примере N-ацетилирования и хронических патологий печени // ДАН, 2003. – Т. 388. – С. 842–844.

11. **Пирузян Л.А.** Метаболический паспорт человека – основа новой стратегии в фармакологии // Вестник РАН, 2004. – Т. 74. – № 7. – С. 610–618.

12. **Суханов В.А., Саприн А.Н., Пирузян Л.А.** Фармакогенетические проблемы противоопухолевой терапии // Хим. Фарм. журнал, 2004. – Т. 38. – № 7. – С. 3–9.

13. **Суханов В.А., Саприн А.Н., Калинина Е.В. и др.** Роль метаболического статуса организма в восприимчивости к токсическому и мутагенному воздействию полициклических ароматических углеводородов // Токсикологический вестник, 2006. – № 1. – С. 6–11.

14. **Шумаков В.И., Василенко В.Т., Гасанов Э.К. и др.** О роли метаболического статуса донора и реципиента в процессах приживления полнослойного кожного лоскута // ДАН, 2003. – Т. 388. – № 5. – С. 708–710.

15. **Шумаков В.И., Василенко В.Т., Гасанов Э.К. и др.** Значимость метаболического статуса донора и реципиента в процессах приживления полнослойного кожного лоскута по данным гистологического анализа // Физиол. чел., 2004. – Т. 30. – № 4. – С. 69–74.

16. **Zhang W., Purchio A., Coffee R.** Differential regulation of the human CYP3A4 promoter in transgenic mice and rats // Drug metabol. Dispos., 2003. – V. 32. – P. 163–171.

17. **Shimada T., Inoue K., Suzuki Y. et al.** Arylhydrocarbon receptor-dependent induction of liver and lung cytochromes P450 1A1, 1A2, and 1B1 by PAH // Carcinogenesis, 2002. – V. 23. – P. 1199–1207.

18. **Stiborova M., Martinek V., Rydlova H. et al.** Sudan I is a potential carcinogen for humans // Cancer Res., 2002. – V. 62. – P. 5678–5684.

19. **Stresser D., Turner S., Blanchard A. et al.** Cytochrome P450 fluorometric substrates: Identification of isoform-selective probes for rat CYP2D2 and human CYP3A4 // Drug Metabol. Dispos., 2002. – V. 30. – P. 845–852.

20. **Pfeifer S., Borchert H.** Pharmakokinetik und Biotransformation // Berlin: Verlag Volk und Gesundheit, 1980.

21. **Kitteringham N., Davis C., Howard N. et al.** Interindividual and interspecies variation in hepatic microsomal epoxide hydrolase activity // J. Pharmacol. Exp. Therap., 1996. – V. 278. – P. 1018–1027.

22. **Lillibridge J., Amore B., Slattery J. et al.** Protein-reactive metabolites of carbamazepine in mouse liver microsomes // Drug Metab. Dispos., 1996. – V. 24. – P. 509–514.

23. **Masubuchi Y., Nakano T., Ose A. et al.** Differential selectivity in carbamazepine-induced inactivation of cytochrome P450 enzymes in rat and human liver // Arch. Toxicol., 2001. – V. 75. – P. 538–543.

24. **Hung S., Chung W., Jee S. et al.** Genetic susceptibility to carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions // Pharmacogenet. Genomics, 2006. – V. 16. – P. 297–306.

Материал поступил в редакцию 14.02.07.

V.A.Sukhanov, A.N.Saprin, Ye.V.Kalinina, T.Yu.Fedorova, L.A.Piruzyan

EFFECT OF THE METABOLIC OXIDATION PHENOTYPE IN NON-INBRED ANIMALS ON THEIR SUSCEPTIBILITY TO TOXIC ACTION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

Center for theoretical problems of physico-chemical pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

It is shown that the population of non-inbred rats could be referred to several phenotypes basing on the results of metabolism analysis of carbamazepin. Biotransformation of carbamazepin mainly proceeds according to epoxide-diol pattern as in case of polycyclic aromatic hydrocarbons of benz(a) pyrene type, that means that carbamazepin could serve a marker of toxic and carcinogenic effect produced by polycyclic aromatic hydrocarbons. Basing on the results of phenotyping, non-inbred rats could be subdivided into three groups according to the activity degree of metabolizers- mild, medium and active. The group of «active metabolizers» proved to be the most stable to the effect of benz(a)pyrene both as to acute toxicity and distant periods of time (6 or 5 months).

УДК [615.849.5+549.49]:575.113

С.Д.Иванов, М.П.Собуцкий*, А.С.Монахов, Е.Г.Кованько

ЭКСПРЕССНАЯ ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НИЗКИХ ДОЗ РАДИАЦИОННО-РУТУНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

*Центральный научно-исследовательский рентгенорадиологический институт Росздрава
ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России, Санкт-Петербург*

Разработан метод экспрессной прижизненной количественной характеристики генотоксических эффектов при радиационно-ртутных воздействиях на организм мелких экспериментальных животных путем анализа содержания и структуры ДНК нуклеоидов лейкоцитов крови с помощью флуоресцентных красителей. Данный подход предлагается для индикации воздействий в диапазоне малых доз (близких к предельно допустимым), имеющих место, как правило, в окружающей среде.

Ключевые слова: радиационно-ртутные воздействия, низкие дозы, цитогенетический анализ, содержание и структура ДНК нуклеоидов.

Введение. Сочетанное воздействие ряда факторов окружающей среды разной природы в малых дозах может привести к значимым повреждающим эффектам вследствие их аддитивности или синергизма в живых организмах. Генотоксические эффекты при действии низких доз радиационно-химических воздействий окружающей среды, могут привести к увеличению частоты опухолеобразований, нарушениям в системе кроветворения и в репродукции человека и млекопитающих, сокращению продолжительности жизни и т. д. В настоящее время для оценки генотоксических эффектов, наряду с давно апробированными методами (определение числа хромосомных aberrаций, разрывов цепей ДНК, микроядерный тест), используются новые приемы – «кометный» тест, цитогенетический анализ в сочетании с флуоресцентной *in situ* гибридизацией, ряд показателей апоптоза и другие подходы, которые позволяют более детально охарактеризовать нарушения содержания и структуры ДНК в клетках. Учет хромосомных aberrаций в культивируемых лимфоцитах является одним из классических способов идентификации действия радиации на организм мелких лабораторных животных [4]. Однако при массовых обследованиях использование цитогенетического метода осложняется трудоемкостью и длительностью анализа. Для статистически достоверной оценки генотоксичности какого-либо воздействия на достаточном числе тестируемых объектов желательно иметь чувствительный и вместе с тем более быстрый метод. Ранее нами было показано, что определение содержания ДНК нуклеоидов лейкоцитов крови с помощью флуоресцентных красителей может быть успешно применено для

быстрой оценки генотоксичности в соматических клетках и диагностики лучевых поражений человека и животных [1, 3]. Задачей настоящей работы явилось сопоставление отдельных цитогенетических показателей генотоксичности радиационно-ртутного воздействия в лимфоцитах мелких лабораторных животных с вновь разработанными способами, которые дают возможность существенно сократить время анализа.

Материалы и методы исследований. Влияние облучения на животных изучали на крысах-самках в возрасте 4–5 мес. разводки питомника «Рапполово» в двух сериях экспериментов. Перед началом опыта животные были разделены на 4 группы по 3–4 крысы в каждой. Контролем служили крысы, не подвергавшиеся никаким повреждающим воздействиям (1-я группа). Крысы 2 и 4-ой групп подвергали общему однократному рентгеновскому облучению в дозе 25 сГр на аппарате РУМ-17 (напряжение 200 кВ, ток 15 мА, фильтр – 2 мм Cu + 1 мм Al; мощность поглощенной дозы 0,16 Гр/мин). Крысы 3 и 4-ой групп в течение 3 мес. до облучения и 1 мес. после рентгеновского воздействия получали с питьевой водой соль ртути $Hg_2(NO_3)_2$ в концентрации 1 мкг/л в расчете на металл. Измерение цитогенетических и биохимических показателей проводили через 4 мес. после начала эксперимента.

Для определения количественных и структурных цитогенетических показателей в лимфоцитах крыс применяли полумикрометод культивирования цельной крови животных. Для этого 0,25–0,3 мл крови из хвостовой вены крыс, подвергнутых вышеупомянутому радиационно-ртутным воздействиям, культивировали в течение 70 ч при 37,6°С и готовили метафазные препараты для хромосомного анализа, как описано ра-

* Фрагмент диссертационной работы

нее [4]. Цитогенетическое исследование проводили на микроскопе МБИ-15 под масляной иммерсией на метафазных пластинках при рутинном окрашивании хромосом. Учитывали клетки со всеми видимыми структурными (хромосомные и хроматидные разрывы, транслокации, кольцевые хромосомы, ди- и трицентрики, парные и одиночные фрагменты) и количественными нарушениями (гиперанеуплоидию и полиплоидию). Анализировали не менее 100 клеток у каждого животного.

Другим способом оценки генотоксических эффектов в белых клетках крови являлся модифицированный нами метод, основанный на определении индекса ДНК (ИД), который вычисляли как отношение концентрации ДНК (мкг/мл) к количеству лейкоцитов в 1 мл крови (число клеток определяли с помощью камеры Горяева и окраски метиленовым синим). Для этого пробы крови из хвостовой вены крыс объемом 0,02 мл обрабатывали в течение 3–5 мин 0,2 мл лизирующей смеси, предназначенной для получения нуклеоида. Состав смеси: 2,0 М NaCl, 0,1 М трилон Б, 0,01 М трис, 0,5% тритон X-100, pH 8,0.

Измерение содержания ДНК в лизированных пробах осуществляли флуориметрически с использованием 4',6-диамидино-2-фенилиндола (ДАФИ) (фирма «Serva» Германия) при конечной концентрации флуорохрома 0,1 мкг/мл. Для определения концентрации ДАФИ спектрофотометрическим способом применяли коэффициент $\epsilon_{344} = 23000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Вариации определявшегося нами ИД обусловлены изменениями количества флуорохрома, взаимодействующего с ДНК нуклеоида, который образовался в результате лизиса клеток в присутствии ЭДТА, 2 М NaCl и детергента. Структура ДНК в нуклеоиде близка к нативной, но лишена комплексообразующих, белковых и липидных компонентов, что облегчало связывание красителя с субстратом.

Все измерения флуоресценции осуществляли в буфере – 0,01 М трис, 0,1 М NaCl, 0,01 М трилон Б, pH 7,2–7,4 на спектрофлуориметре «Model 850» фирмы «Hitachi» Япония или другом, имеющим для ДАФИ длину волны возбуждения – $\lambda_{\text{возб.}} = 350 \text{ нм}$ и длину волны эмиссии – $\lambda_{\text{эм.}} = 450 \text{ нм}$, что может быть установлено в зависимости от конструкции конкретного прибора как с помощью аттенуаторов, так и с помощью фильтров.

Для учета условий измерений в лизатах крови, расчет количества ДНК в пробах осуществляли относительно введенного в образец стандарта. В качестве его использовали обработанную ультразвуком ДНК тимуса теленка (фирма «Serva» Германия) в концентрациях 5–10 мкг/мл.

При флуориметрическом определении концентрации ДНК в пробе анализируемого образца измеряли фоновую интенсивность флуоресценции – ИФ_0 , затем интенсивность флуоресценции после добавления красителя – ИФ_1 и, наконец, интенсивность флуоресценции после добавления раствора стандартной ДНК в эту же пробу – ИФ_2 . Расчет концентрации ДНК в исследуемых пробах осуществляли по формуле:

$$C_{\text{пр.}} (\text{мкг/мл}) = K \cdot \left(\frac{\Delta\text{ИФ}_1}{\Delta\text{ИФ}_2} - \frac{\Delta\text{ИФ}_{01}}{\Delta\text{ИФ}_{02}} \right) \quad (1)$$

где: K – коэффициент, зависящий от концентрации ДНК, использованной в качестве стандарта (мкг/мл) и разбавления пробы и стандартной ДНК в кювете измерения; $\Delta\text{ИФ}_1$, $\Delta\text{ИФ}_2$, $\Delta\text{ИФ}_{01}$ и $\Delta\text{ИФ}_{02}$ – интенсивность флуоресценции пробы ($\Delta\text{ИФ}_1 = \text{ИФ}_1 - \text{ИФ}_0$) и стандартной ДНК ($\Delta\text{ИФ}_2 = \text{ИФ}_2 - \text{ИФ}_1$ в кювете измерения, соответственно, с учетом влияния компонентов лизирующей смеси, для которой, аналогично исследуемому образцу, определялись $\Delta\text{ИФ}_{01}$ и $\Delta\text{ИФ}_{02}$). Расчет величины индекса ДНК (ИД) осуществляли по формуле:

$$\text{ИД} (\text{пг/кл}) = C_{\text{пр.}} / \text{Л} \quad (2)$$

где: $C_{\text{пр.}}$ – концентрация ДНК в пробе (мкг/мл); Л – число лейкоцитов в пробе (10^6 кл/мл). Для характеристики структуры ДНК в пробах, лизированных в условиях получения нуклеоида, применили двухпараметровый критерий: один параметр был связан со степенью суперспирализации полинуклеотида, а другой отражал общее количество зондируемой ДНК. Для этого использовали специфические флуоресцентные зонды: этидий бромид – интеркалятор, у которого свечение в комплексе с ДНК зависит от степени сверхскрученности зондируемого субстрата [6], и ДАФИ – лиганд, при низких концентрациях связывающийся вдоль цепи ДНК неинтеркалирующим образом [7]. Ранее было показано, что изменения числа молекул красителя, взаимодействующего с ДНК нуклеоида, при окрашивании его этидий бромидом обусловлены релаксацией суперспиральной структуры полинуклеотида, которая связана с разрывами его пентозофосфатных цепей после облучения [6]. Рабочая концентрация этидий бромида составляла 4,0 мкг/мл; при определении концентрации этидий бромида спектрофотометрическим методом принимали $\epsilon_{480} = 5680 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Измерения интенсивности флуоресценции проб, окрашенных этидий бромидом, осуществляли при длине волны возбуждения – $\lambda_{\text{возб.}} = 510 \text{ нм}$ и длине волны эмиссии – $\lambda_{\text{эм.}} = 590 \text{ нм}$. Структурное состояние ДНК, зондируемой двумя флуорохромами, оценивали с помощью коэффициента относительной флуорес-

ценции (КОФ), который рассчитывали по формуле:

$$\text{КОФ} = K \cdot \text{ИФ}_{\text{бэ}} / \text{ИФ}_{\text{ДАФИ}} \quad (3)$$

где: $\text{ИФ}_{\text{бэ}}$ и $\text{ИФ}_{\text{ДАФИ}}$ – величины интенсивностей флуоресценции проб, окрашенных этидий бромидом и ДАФИ, соответственно, с вычетом фоновой флуоресценции; K – коэффициент, учитывающий разбавление проб и стандартной ДНК в кювете измерения, а также величины интенсивностей флуоресценции раствора стандарта. Определяли взаимосвязь изменений этих биохимических параметров с вариациями цитогенетических показателей в тех же пробах.

Экспериментальные данные обрабатывали с использованием непараметрического U -критерия Вилкоксона-Манна-Уитни, а также стандартных программ корреляционного и регрессионного анализа.

Результаты и обсуждение. Результаты определения цитогенетических показателей через 1 месяц после облучения в группах крыс, подвергнутых различным видам повреждающих воздействий, представлены в табл. Как можно видеть из приведенных данных, допустимая концентрация химического токсиканта и низкая доза облучения, примененные изолированно, не приводили к существенным изменениям цитогенетических показателей в группах подопытных животных по сравнению с уровнем показателей в группе крыс интактного контроля. Вместе с тем, в результате сочетанного воздействия наблюдалась выраженная тенденция увеличения относительного числа анеуплоидных и полиплоидных клеток, а также снижения процента лимфоцитов с хромосомными и хроматидными разрывами.

Тенденция повышения пloidности в лимфоцитах согласуется с известными данными других авторов [8] о том, что соединения ртути часто оказывают кластогенные эффекты у эукариот, опосредованные путем связывания SH-групп, и действуя как ингибиторы веретена, приводят к анеупloidии и/или полиплоидии. Некоторое снижение количества клеток с хромосомными и хроматидными разрывами к концу 30 суток после облучения, возможно, обусловлено активацией пострadiационных восстановительных и

реparационных процессов, происходящих в организме облученных животных в этот период времени, в результате чего в кровотоке частично уменьшается число поврежденных клеток.

Результаты определения суммарного числа хромосомных aberrаций в лимфоцитах после выше-примененных радиационно-ртутных воздействий в малых дозах в одной и той же пробе крови крыс с помощью метафазного хромосомного анализа лимфоцитов [4] и результаты определения ИД вышеописанным методом, основанным на флуориметрии ДНК нуклеоидов лейкоцитов, достаточно хорошо совпадали (рис.1). Регрессионный анализ индивидуальных значений числа лимфоцитов (%) с хромосомными aberrациями и соответствующих значений ИД лейкоцитов крови крыс позволил установить достоверную взаимосвязь между этими показателями, описывающуюся функцией:

$$\text{ХрАб} (\%) = -2,03 + 0,39 \cdot \text{ИД} (\text{пг/кл})$$

$$R = 0,820, p < 0,01.$$

Следовательно, предлагаемый способ определения суммарного числа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови крыс после радиационно-ртутных воздействий дает возможность оценить уровень генотоксических повреждений подобно цитогенетическому тесту.

Дополнительный регрессионный анализ индивидуальных значений числа анеуплоидных и полиплоидных лимфоцитов (%) и соответствующих значений ИД лейкоцитов крови крыс позволил обнаружить существенно значимую ($R = 0,992; p < 0,001$) взаимосвязь между этими показателями, описывающуюся функцией:

$$\text{ХрАб}_{\text{анеу+полипл}} (\%) = 0,1 + 0,14 \cdot \text{ИД} (\text{пг/кл}).$$

Подобный статистический анализ между количеством лимфоцитов с хромосомными и хроматидными разрывами и величиной КОФ в лейкоцитах также выявил достоверную ($R = 0,827; p < 0,05$) взаимосвязь между измеренными параметрами:

$$\text{ХрАб}_{\text{хром. разрывы}} (\%) = -5,3 + 7,4 \cdot \text{КОФ} (\text{отн. ед.}).$$

Определение анеуплоидии в циркулирующих лейкоцитах крови с помощью показателя ИД ранее нами было верифицировано также при од-

Таблица

Изменения пloidности, хромосомных и хроматидных разрывов в лимфоцитах крыс после радиационно-ртутных воздействий в низких дозах

| Вид повреждения хромосом | Интakтный контроль | Введение соли ртути | Облучение | Введение соли ртути + облучение |
|--|--------------------|---------------------|-----------|---------------------------------|
| Клетки с гиперанеуплоидией и полиплоидией (%) | 1,0±0,3 | 0 | 1,0±0,3 | 2,0±0,7 |
| Клетки с хромосомными и хроматидными разрывами (%) | 7,4±5,5 | 6,0±2,6 | 2,7±2,2 | 2,0±1,0 |

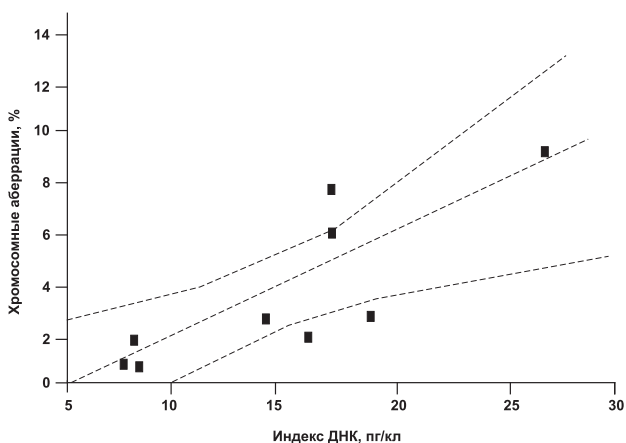


Рис. Зависимость между хромосомными aberrациями и индексом ДНК в лейкоцитах крови крысы

новременном анализе отдельных проб крови животных вышеописанным способом и на проточном цитометре [2]. Количественное определение разрывов в ДНК лейкоцитов с использованием флуоресцентной индикации, включающей применение интеркалятора — этидий бромида, ранее также было осуществлено другими авторами [5], однако их подход требует несколько больше материала для анализа и более длителен, чем предлагаемый нами для определения КОФ. Следовательно, вышеописанные способы определения ИД и КОФ в лейкоцитах крови крысы после радиационно-ртутных воздействий дают возможность определить процент как анеуплоидных и полиплоидных лимфоцитов, так и числа клеток с хромосомными и хроматидными разрывами и таким образом оценить уровень соответствующих генотоксических повреждений.

Новизна предлагаемого подхода заключается в использовании лизирующей смеси для обработки проб крови перед измерением показателя, технологии определения параметра, применении формул для расчета и критериях генотоксичности.

Важным достоинством разработанного нами метода анализа является то, что требуется гораздо меньше материала — 0,01–0,02 мл цельной крови для исследования по сравнению со способами, применявшимися ранее. Это позволило использовать его для прижизненного анализа на мелких лабораторных животных.

Большинство генотоксических тестов, используемых для характеристики повреждающих воздействий, требует достаточно длительного времени для определения соответствующих показателей. Так, общее время, необходимое для определения уровня хромосомных aberrаций составляет несколько дней. Для получения результатов оценки генотоксичности в тестах *in vitro* (тест Эймса с использованием сальмонелл/микросом; микроядерный тест на культуре первич-

ных гепатоцитов крысы или клеток растений) согласно данным литературы [9] требуется не менее 48 ч только для инкубации клеток. Время определения показателя кометного теста и метода щелочного раскручивания ДНК составляет от 8 ч до 1 суток. Для определения ИД и КОФ необходимо примерно 10–15 мин, следовательно, использование этих показателей позволяет более оперативно осуществлять генотоксический контроль. Поскольку измерение предлагаемых биохимических показателей существенно быстрее, чем определение числа хромосомных aberrаций или длины хвоста «комет», можно рекомендовать новые способы в качестве экспресс-метода оценки генотоксических эффектов радиационно-ртутного воздействия в соматических клетках млекопитающих с использованием 0,01–0,02 мл цельной крови. Метод может широко использоваться для серийной прижизненной оценки генотоксичности в лейкоцитах крови у мелких лабораторных животных (крысы, мышей), у сельскохозяйственных и домашних животных при контроле состояния окружающей среды. Он был апробирован на моделях при сочетании действия малых доз ионизирующего излучения и других тяжелых металлов (свинца, кадмия, цинка, железа), а также при экспертизе ряда водоемов Ленинградской области в г. Тихвине.

Заключение. На основании флуоресцентного анализа содержания и структуры ДНК нуклеидов лейкоцитов крови разработан способ прижизненной экспрессной оценки анеуплоидии и полиплоидии, а также хромосомных и хроматидных разрывов в лимфоцитах мелких лабораторных животных после радиационно-ртутных воздействий в низких дозах. По сравнению с известными методами, способ имеет ряд существенных преимуществ:

1. Способ позволяет значительно уменьшить материалоемкость для осуществления анализа крови — в 10–20 раз в сравнении с известными (в частности, цитогенетическим) методами.

2. Значительно сокращается время выполнения процедуры — до 10–15 мин, в то время как известные методы требуют от одних до нескольких суток, что может быть решающим в случае чрезвычайных ситуаций.

3. Способ значительно проще всех известных и требует только флуориметра, который может быть портативным.

Предлагаемый метод имеет достаточно высокую степень воспроизводимости, погрешность составляет $\pm 20\%$. Методика может быть использована специалистами, работающими в области медицинской экологии, токсикологии, радиобиологии, санэпиднадзора и чрезвычайных ситуаций с целью экспрессного выявления генотоксических эффектов малых доз радиационно-химических воздействий.

Авторы выражают благодарность К.В.Кованько за помощь в проведении экспериментов.

Список литературы

1. **Иванов С.Д., Кованько Е.Г., Попович И.Г. и др.** Оценка генотоксичности и отдаленных эффектов радиационно-химических воздействий // *Радиационная биология. Радиоэкология*, 1999. — Т. 39. — № 4. — С. 418-424.

2. **Иванов С.Д., Кованько Е.Г., Ямшанов В.А. и др.** Радиобиологические эффекты олипифата при лучевых воздействиях // *Бюлл. экспер. биол.*, 2005. — Т. 140. — № 10. — С. 429-432.

3. **Иванов С.Д., Ямшанов В.А., Кованько Е.Г. и др.** Сравнительная оценка пострадиационных генотоксических эффектов в клетках млекопитающих биохимическими и цитогенетическим методами // *Бюлл. экспер. биол.*, 2006. — Т. 142. — № 12. — С. 635-638.

4. **Монахов А.С.** Методические рекомендации по прижизненному цитогенетическому исследованию мутагенеза у мелких лабораторных животных (крыс и кроликов). — Л., 1984. — 15 с.

5. **Birnboim H.C., Jevcak J.J.** Fluorometric method for rapid detection of DNA strand breaks in human white blood cells produced by low doses radiation // *Cancer Res.*, 1981. — V. 41. — P. 1889-1892.

6. **Cook P.R., Brazell L.A.** Spectrofluorometric measurement of the binding of ethidium to superhelical DNA from cell nuclei // *Eur. J. Biochem.*, 1978. — V. 84. — P. 465-477.

7. **Daxhelet G.A., Coene M.M., Hoet P.P. et al.** Spectrofluorometry of dyes with DNA's of different base composition and conformation // *Anal. Biochem.*, 1989. — V. 179. — № 2. — P. 410-413.

8. **DeFlora S., Beunicegli C., Bagnasco M.** Genotoxicity of mercury compounds. A review // *Mutat. Res.*, 1994. — V. 317. — № 1. — P. 57-79.

9. **Helma C., Eckl P., Gottmann E.J. et al.** Genotoxic and ecotoxic effects of groundwaters and their relation to routinely measured chemical parameters // *Environ. Sci. Technol.*, 1998. — V. 32. — P. 1799-1805.

Материал поступил в редакцию 23.01.07.

S.D.Ivanov, M.P.Sobutskiy, A.S.Monakhov, Ye.G.Kovanko

EXPRESS-ASSESSMENT OF GENOTOXIC EFFECTS PRODUCED BY RADIOACTIVE AND MERCURY EXPOSURES IN LOW DOSES

Central Research Institute for Roentgenology and Radiology, RF Ministry of Health and Social Development, St.Petersburg

A new method was developed for the in-life-time quantitative express evaluation of genotoxic effects on small laboratory animals at radioactive and mercury exposure using fluorescent dyes to analyse nucleoid DNA content and structure in blood leukocytes. This approach is recommended for identifying exposures within a low doses range (close to permissible ones) which as a rule take place in the environment.

УДК 612-086: 613.633:616-092.4

Л.Т.Базелюк

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КРОВЕТВОРНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УГОЛЬНО-ПОРОДНОЙ ПЫЛИ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Национальный центр гигиены труда и профзаболеваний Минздрава Республики Казахстан, Караганда

На белых крысах изучали кроветворную систему при интратрахеальном введении угольно-породной пыли и одновременное воздействие средней физической нагрузки в течение 1 месяца; цитохимическими методами исследования обнаружили наиболее выраженные нарушения в клетках костного мозга, тимуса, селезенки и периферической крови — проявляющиеся в увеличении содержания фосфолипидов, снижении лизосомально-катионных белков, а также активности моноаминоксидазы, эстеразы, РНК и катехоламинов, приводящие к развитию дистрофических изменений с последующей гибелью клеток.

Ключевые слова: пыль, физическая нагрузка, клетки кроветворной системы.

Введение. Клеточная фаза самоочищения легких от ингалированных частиц является саморегулируемым процессом, контролируемым количеством образующих продуктов разрушения

макрофага (ПРМ) [1, 2]. Наряду с местной активацией и аттракцией фагоцитоспособных клеток и мобилизацией их из депо ПРМ активируют гранулоцитомоноцитопоз [3], что можно рас-

смаивать, как проявление общих закономерностей регуляции кроветворения в которой существенное место отводится продуктам разрушения клеток крови [4].

В связи с этим целью нашей работы явилось изучение цитохимических показателей клеток костного мозга (ККМ), тимуса (Т), селезенки (С) и периферической крови (ПК) при действии угольно-породной пыли (УПП) и УПП на фоне физической нагрузки (ФН) на экспериментальных животных.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 30 беспородных крысах-самцах (массой 200–230 г). Первая группа – контроль, 2-ая группа – эксперимент. Экспериментальным животным под слабым эфирным наркозом через ротовую полость в просвет трахеи вводили металлическую воронку и через нее в дыхательные пути вводили 1 мл физиологического раствора со взвесью 50 мг УПП, собранной на шахте «Шахтинская». Пыль содержала кварцевую фракцию (7,2–10,7%), витринит (63%), семивитринит (4%), фюзенит (11%), железо (0,79%), марганец (0,06%). Размер пылевых частиц составил 1–2 мкм (95%). В третьей группе экспериментальным животным после затравки проводили ФН в течение 1 месяца. Дозированную ФН создавали на горизонтальном тредбане со скоростью 20 м/мин., что по данным литературы соответствовала средней ФН по 2 ч 5 раз в неделю [5]. Получали мазки – отпечатки и изучали клеточный состав ККМ бедренной кости, тимуса, селезенки и ПК на цитохимические методы исследования на фосфолипиды (ФЛ), лизосомально-катионные белки (ЛКБ), гликоген (ГЛ), моноаминоксидазу (МАО), эстеразу (ЭС), рибонуклеиновую кислоту (РНК), катехоламины (КА) [6].

Полученные данные оценивали путем подсчета 200 клеток с каждого препарата с подразделением их на группы (0–1–2–3–4), а на ЛКБ (0–0,5–1,0–1,5–2,0–2,5–3,0) в зависимости от интенсивности окрашивания и локализации гранул в клетке. Средний цитохимический коэффициент (СЦК) вычисляли методом [7].

Экспериментальный материал был обработан методом вариационной статистики. Различия значений считали достоверными при $p < 0,001$.

Результаты исследований и обсуждение. Цитохимическими методами исследования установлено, что при месячной интратрахеальной затравке УПП у экспериментальных животных в ККМ обнаружили повышение содержания ФЛ в нейтрофилах и моноцитах на 20%, снижение содержания ЛКБ на 44%, повышение ГЛ на 27%, снижение активности МАО на 36%, ЭС на 39%, наблюдается снижение содержания РНК в нейтрофильных лейкоцитах (рибосомах) на 36% и КА в эритроцитах на 24% по сравнению с контрольной группой животных (табл.). В тимусе наблюдали повышенное содержание ФЛ на 22%,

снижение содержания ЛКБ на 55%, повышение ГЛ на 44%, снижение активности МАО на 33%, ЭС на 54%, РНК в лимфоцитах на 51% и КА на 25%. В селезенки также наблюдали повышение содержания ФЛ на 30%, снижение ЛКБ на 77%, повышение ГЛ на 23%, снижение активности МАО на 41%, ЭС на 15%, РНК на 28%, КА на 44%. В ПК отмечено повышение содержания ФЛ на 81%, снижение ЛКБ на 69%, МАО на 63%, ЭС на 42%, РНК на 75% и КА на 21%.

При сочетанном действии УПП и ФН в течение 1 месяца у животных 3-й группы обнаружили усугубление метаболических показателей клеток кроветворной системы, в ККМ отмечено резкое повышение содержания ФЛ в 2,4 раза, снижение ЛКБ на 62%, повышение ГЛ на 70%, снижение активности МАО на 68%, ЭС на 67%, РНК на 87% и КА на 46%. При исследовании клеток тимуса обнаружили также резкое повышение содержания ФЛ в 2,1 раза, снижение ЛКБ в 2 раза, повышение ГЛ на 80%, снижение активности МАО на 53%, ЭС в 2 раза и содержание РНК и КА снижено на 90 и 33% соответственно ($p < 0,001$). В селезенки наблюдали повышение содержания ФЛ на 96%, снижение ЛКБ на 96%, повышение ГЛ на 56%, активность МАО и ЭС снижена на 96 и 60% соответственно, а также снижено содержание РНК и КА на 60 и 56% по сравнению с контрольной группой животных. В периферической крови нами отмечено резкое повышение содержания ФЛ, что в среднем составило $(3,00 \pm 0,02$ усл. ед.) в 2,5 раза выше уровня контрольной группы. Уровень ЛКБ снижен на 75%, содержание ГЛ повышено всего на 22%, активность МАО и ЭС снижена в 2,2 раза и на 82%, содержание РНК и КА снижено соответственно в 2,3 раза и на 47% (табл.).

При сравнении экспериментальных животных, затравленных только одной УПП – 2-я группа, с животными с 3-й группой, затравленных УПП+ФН, отмечают существенные метаболические изменения по уровню содержания ФЛ в ККМ и тимусе в среднем возрастают на 90 и на 73%, а в клетках селезенки и ПК повышено на 50%. Остальные цитохимические показатели изменялись в незначительном количестве.

Проведенные цитохимические исследования позволили выявить патологические изменения в кроветворной системе при действии УПП и УПП+ФН, что, по-видимому, свидетельствует о выраженных метаболических изменениях обмена веществ в фагоцитах. Внутриклеточное накопление ФЛ можно расценивать, как признак дезорганизации внутриклеточных мембран, что сопровождается повышением их проницаемости. Липидные молекулы, образующие сложные комплексы с белками, углеводами и неорганическими солями, демаскируются, становятся видимыми, когда в клетке происходит так называемый липофанероз. Механизм липидной деге-

нерации клеток связан с распадом липопротеидных макромолекул [8].

Изучение цитотоксических свойств УПП и сочетанного действия УПП+ФН – включило постановку реакции на выявление суммарного содержания ЛКБ. Лизосомы моноцитов и макрофагов лишены катионных белков, потому и являются маркерами клеток гранулоцитарного ряда. Стимуляция пылевыми частицами радикально меняет метаболический профиль НЛ. Происходит резкое увеличение расхода глюкозы в реакциях глюкозомонофосфатного шунта и пути Эмбдена-Меергофа-Парнасе. Одновременно повышается потребление кислорода и продукция биокислителей, что предшествует активации фосфолипазы А₂, вызывающей высвобождение ненасыщенных жирных кислот. Кислородные метаболиты, обладающие киллерными свойствами, могут быть включены звеном в контроле высвобождения из лизосом гранулоцитов преформированных катионных белков, обеспечивающих защитные реакции опосредованных нейтрофилов [9, 10]. Считают, что ЛКБ в Киллинг-эффектах играют скорее вспомогательную роль. На первый взгляд кажется, что полученные нами результаты противоречивы: у запыленных крыс вместо увеличения содержания ЛКБ происходит снижение эффекторных функций в очаге воспаления. Объяснение этого феномена, видимо, заключается в том, что эффекторный потенциал НЛ филогенетически предназначен для киллинга внутриклеточных и внеклеточных биологических объектов. Вследствие этого, вышедшие за пределы кровяного русла, НЛ после короткого действия разрушаются посредством аутоагрессии нарабатываемыми биокислителями, обладающими мощными цитотоксическими свойствами. Макрофаги фагоцитируют поврежденные лейкоциты и их обломки,

удаляя тем самым источник собственной гемотоксической стимуляции [11]. При гибели НЛ в очаге воспаления, крови, ККМ, тимусе, селезенки происходит лавинообразный выход катионных белков, возникает деканионизация гранул, накопление в жидкой среде ЛКБ, что приводит к аутолизу клетки, и, следовательно, по количеству деканионизированных гранул судят о жизнеспособности фагоцитов. Увеличение содержания ГЛ свидетельствует о повышении энергетического уровня клетки, обеспечивающего интенсивность фагоцитарной реакции [12]. Ключевой фермент катаболизма катехоламинов является MAO (амин: кислород-оксиредуктаза), метаболизирующий большую группу моноаминов. Катализируя реакцию окислительного дезаминирования, MAO не только инактивирует биогенные амины, но и способствует образованию соединений, обладающих биологической активностью. MAO – структурно связанный фермент внешней мембраны митохондрий – служит хорошим маркером функционального состояния этих органов [13]. Снижение активности фермента MAO в клетках кроветворной системы говорит о снижении состояния обмена моноаминов в организме у экспериментальных животных особенно при сочетанном действии УПП + ФН. Физиологическая роль активности неспецифической эстеразы связана с регуляцией уровня ацетилхолина. Эстераза имеет отношение к фагоцитозу и принимает участие в метаболизме белков и является лизосомальным ферментом, и локализуется в основном в лимфоцитах в Т-клетках. Снижение активности в ККМ, тимусе, селезенки и ПК говорит о нарушении лимфопоэза [14, 15].

Введенная пыль и ФН оказывала также значительное влияние на наследственный аппарат клеток кроветворной системы. Уровень РНК выражался в снижении по сравнению с кон-

Таблица

Цитохимические показатели в ККМ, Т, С и ПК у крыс при интратрахеальной затравке УПП и ФН (в усл.ед.) в 1 клетке (M±m)

| Объект исследования (n = 10) | | ФЛ | ЛКБ | ГЛ | MAO | ЭС | РНК | КА |
|------------------------------|-----|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Контроль n = 10 | ККМ | 0,93±0,04 | 1,14±0,04 | 1,26±0,05 | 1,60±0,04 | 1,49±0,07 | 1,03±0,03 | 1,97±0,06 |
| | Т | 0,97±0,01 | 0,98±0,02 | 0,56±0,02 | 0,84±0,04 | 1,46±0,02 | 1,24±0,03 | 1,49±0,01 |
| | С | 0,76±0,05 | 0,92±0,1 | 1,25±0,1 | 1,37±0,03 | 1,20±0,04 | 0,68±0,02 | 1,95±0,06 |
| | ПК | 1,12±0,04 | 0,83±0,02 | 1,21±0,09 | 1,26±0,03 | 1,17±0,06 | 0,07±0,01 | 1,79±0,07 |
| УПП 1 мес. | ККМ | 1,12±0,01* | 0,79±0,02* | 1,61±0,05* | 1,18±0,02* | 1,07±0,06* | 0,76±0,04* | 1,58±0,08* |
| | Т | 1,18±0,02* | 0,63±0,01* | 0,81±0,01* | 0,63±0,02* | 0,95±0,02* | 0,82±0,02* | 1,19±0,01* |
| | С | 0,99±0,05* | 0,52±0,02* | 1,54±0,05* | 0,97±0,02* | 1,04±0,03* | 0,53±0,03* | 1,35±0,4* |
| | ПК | 2,03±0,04* | 0,49±0,05* | 1,21±0,01* | 0,77±0,02* | 0,82±0,03* | 0,04±0,004* | 1,47±0,05* |
| УПП + ФН 1 мес. | ККМ | 2,22±0,1** | 0,70±0,01** | 2,15±0,02** | 0,95±0,02** | 0,89±0,05** | 0,55±0,03** | 1,35±0,02** |
| | Т | 2,0±0,03** | 0,49±0,02** | 1,01±0,01** | 0,55±0,02** | 0,73±0,04** | 0,65±0,04** | 1,12±0,01* |
| | С | 1,5±0,06** | 0,47±0,02** | 1,95±0,03** | 0,70±0,02** | 0,75±0,02** | 0,41±0,02** | 1,25±0,02* |
| | ПК | 3,0±0,02** | 0,47±0,02** | 1,48±0,02** | 0,56±0,02** | 0,64±0,01** | 0,03±0,01* | 1,22±0,05** |

Примечания: * – достоверные изменения по сравнению с контрольной группой (p < 0,001); ** – достоверные изменения по сравнению УПП с УПП + ФН (p < 0,001)

трольной группой. Подобный эффект следует рассматривать как результат усиленного расхода за счет активации соответствующих ферментных систем и нарушения их ресинтеза, неприменным условием которого является сохранение аэробных условий. Снижение содержания КА в клетках (эритроцитах) кроветворной системы является показателем повышенной активности симпатно-адреналовой системы, обеспечивающей гомеостаз. Снижение запасов (депо) КА в клетках свидетельствует об истощении резервных возможностей этой системы и наблюдалось в большей степени в ККМ, селезенки и ПК у крыс при сочетанном действии УПП+ФН [16].

Выводы. 1. При загрузке УПП в срок до 1 месяца у экспериментальных животных выявлены выраженные изменения цитохимических показателей в ККМ, тимусе, селезенки и ПК, характеризующие нарушения метаболических компенсаторных механизмов.

2. Сочетанное воздействие УПП и ФН усиливало нарушения метаболических изменений в клетках кроветворной системы, что проявилось в увеличении содержания ФЛ, снижении содержания ЛКБ, РНК, КА, а также в снижении активности МАО и ЭС, это приводило к дестабилизации мембран клетки и субклеточных органелл (митохондрий, лизосом), что может свидетельствовать о развитии клеточного и субклеточного дисгомеостаза.

Список литературы

1. Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А., Осипенко А.В. О роли продуктов разрушения макрофага в реакции альвеолярного фагоцитоза // *Бюлл. exper. биол.*, 1977. — № 3. — С. 342-345.
2. Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А. В кн.: «Профессиональные болезни пылевой патологии». — М., 1977. — Вып. 4. — С. 85-95.
3. Привалова Л.И., Осипенко А.В., Фраш В.Н. О роли продуктов деструкции тканевых макрофагов в регуляции гранулоцитопозеза // *Бюлл. exper. биол.*, 1976. — № 12. — С. 1480-1482.
4. Менкин В. Динамика воспаления. М., 1968. — С. 102-107.
5. Колбасин П.Н., Шпак С.И. Влияние хлор- и фосфорорганических пестицидов при динамических физических нагрузках на деградацию тканевых базофилов // *Гиг. и сан.*, 1993. — № 3. — С. 50-51.

6. Базелюк Л.Т., Тусупбекова Г.А., Мухаметжанова Р.А. Критерии оценки гистофизиологических изменений кроветворной и гепаторенальной систем организма при комплексном действии угольно-породной пыли и физической нагрузки (экспериментальное обоснование). *Методические рекомендации*. — Караганда, 2002. — 21 с.

7. Капов И.С. // *Биология*, 1955. — Вып. 10. — С. 1023-1026.

8. Татаева Р.К., Базелюк Л.Т., Шалтаева Н.А. Цитологическое исследование бронхоальвеолярного лаважа при экспериментальном воздействии полиметаллической медьсодержащей пылью // *Медицина и экология*. — Караганда, 2000. — № 1. — С. 76-78.

9. Алькина С.В., Досмагамбетова Р.С., Базелюк Л.Т. Функционально-метаболические изменения фагоцитов при воздействии рудничной пыли, содержащей естественные радионуклеотиды // *Там же*, 1999. — № 4. — С. 17-19.

10. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. В кн.: *Очерки о нейтрофиле и макрофаге*. — Новосибирск: Наука, 1989. — 344 с.

11. Коган А.Х. Фагоцитоззависимые кислородные — свободнорадикальные механизмы аутоагрессии в патогенезе внутренних болезней // *Вестник РАМН*, 1999. — № 2. — С. 3-10.

12. Бурханов А.И., Базелюк Л.Т. Клеточно-молекулярные механизмы действия полиметаллической пыли на органы дыхания // *Гиг. и сан.*, 1990. — № 3. — С. 15-17.

13. Крупицкий Е.М., Карандошова Г.Ф., Востритнов В.В. и др. Ингибирующее действие этанола на активность моноаминоксидазы типа В тромбоцитов у больных алкоголизмом // *Вопросы мед. химии*, 1999. — Т. 45. — № 6. — С. 489-493.

14. Дж. Хейхоу Ф.Г., Кваглино Д. В кн.: *Гематологическая цитохимия*. — М.: Медицина, 1983. — С. 154-172.

15. Ленская Р.В., Иконникова О.А., Держжинская А.М. Цитохимическое изучение неспецифической эстеразы в лимфоцитах периферической крови // *Клиническая лаб. диагностика*, 1992. — № 9-10. — С. 39-43.

16. Патона Д.М. В кн.: *Освобождение катехоламинов из адренергических нейронов*. — М.: Медицина, 1982. — 350 с.

Материал поступил в редакцию 09.01.07.

L.T.Bazelyuk

METABOLIC ACTIVITY OF HEMATOPOIETIC SYSTEM CELLS IN RATS EXPOSED TO COAL AND ROCK DUST AND PHYSICAL LOAD

National Center for Labor Hygiene and Occupational Diseases, Karaganda

The hematopoietic system was studied in rats at intratracheal administration of coal and rock dust and simultaneous exposure to medium physical load within a month; cytochemical methods of investigation revealed the most expressive disturbances in cells of bone marrow, spleen, thymus gland, and peripheric blood, which became apparent in an increased content of phospholipides, decreased content of lysosomal and cationic proteins and in the reduced activity of monoamino-oxidase, esterase, ribonuclease and catecholamines as well. As a result, it led to the development of dystrophic disturbances followed up by death of cells.

Е.А.Саратовских^{1*}, Н.Б.Козлова²

ИЗУЧЕНИЕ АККУМУЛЯЦИИ ПЕСТИЦИДОВ В ЖИРНОЙ ФАЗЕ

¹Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка Московской области²Институт химической физики РАН, Москва

Определены константы распределения октанол/вода ряда пестицидов, широко используемых в практике сельскохозяйственного производства: лонтрел, зенкор, базагран, раундап, кузагард, сетоксидим. Показано, что рассмотренные соединения накапливаются в жирном слое. Изучена кинетика их аккумуляции, рассчитаны скорости накопления в неполярной фазе, которые коррелируют с величинами констант комплексообразования этих же соединений. Причиной биоаккумуляции токсикантов является образование комплексов с жирной фазой (липидной частью) клеточных мембран. Процесс перехода изученных токсикантов в неполярную фазу продолжался со значительной скоростью в течение всего времени наблюдения – 18 месяцев.

Ключевые слова: экотоксиканты – пестициды, липофильность, биоаккумуляция, коэффициент распределения октанол-вода.

Введение. Техногенные экотоксиканты – пестициды, являются в настоящее время преобладающими загрязнителями окружающей среды [1–4]. При этом они обладают свойством накапливаться в биологических системах практически всех трофических уровней. В живых организмах – рыба, птицы, планктон, степень биоаккумуляции (отношение количества токсиканта в испытуемом объекте к контрольному образцу) может достигать $1,7 \cdot 10^3$ раз – хлорпирифос в рыбе толстоголовый пимефалес *Pimephales promelas*; и даже $1,3 \cdot 10^5$ раз – ДДТ на том же объекте, согласно данным [5]. Цитоплазматические мембраны – уникальная защитная и функциональная система клетки [6]. Тем не менее, накопление ксенобиотиков происходит, в основном, в липидной части клеточных мембран, путём связывания препаратов с мембранными белками или липидами [7]. Пестициды влияют на структуру и функции мембран, способны разрушать мембранные системы [8, 9]. Серия проведённых нами работ [10–12] выявила роль процессов комплексообразования в механизме действия ксенобиотиков на молекулярном уровне. Однако для всестороннего освещения механизма действия, важно знать с какой скоростью пестициды встраиваются в мембраны живых существ и проникают внутрь клетки. Значительное количество работ посвящено изучению этого вопроса, а также накоплению пестицидов в объектах окружающей среды, в том числе в живых организмах [13–19]. Однако в связи с тем, что большинство работ выполнено на 1–2 веществах, это не придает указанным исследованиям системного характера и требует дополнительного изучения.

Среди разнообразных физико-химических свойств пестицидного препарата, определяющее влияние на характер его взаимодействия с липидным бислоем оказывает липофильность, которую обычно характеризуют с помощью коэффициента распределения октанол-вода ($K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$).

Целью настоящей работы является определение констант распределения пестицидов: лонтрела, зенкора, базаграна, раундапа, кузагарда, сетоксидима в системе октанол-вода; скорости их перехода в неполярную фазу и накопления в ней.

Материалы и методы исследования. Коммерческие и номенклатурные названия использованных в работе пестицидов представлены в табл. 1. Изучаемые вещества выделяли из коммерческих препаратов по методу [20].

Для определения константы распределения октанол/вода ($K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$) раствор исследуемого пестицида (10 мл в исходной концентрации) приливали 10 мл октилового спирта. Полученную смесь встряхивали в течение 20 мин, после чего давали отстояться. Концентрацию исследуемого пестицида определяли на спектрометре «Specord UV-VIS» (производства ГДР) в воде и в октанол. Исходные концентрации, длины волн максимума спектра поглощения и коэффициенты экстинкции использовавшихся веществ приведены в табл. 1. После первого измерения все смеси переливали в специально сконструированные герметично закрывающиеся сосуды, позволяющие производить отбор проб из верхней – жирной фазы (пипеткой) и нижней – водной фазы (через кран на притёртом шлифе в дне сосуда). Для моделирования процесса биоаккумуляции экологических токсикантов в объектах окружающей среды измерения константы распределения октанол/вода ($K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$) повторяли через 15 и 30 суток,

* Фрагмент диссертационной работы

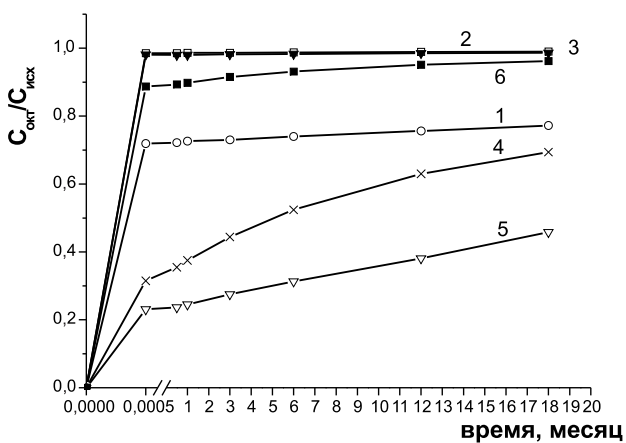


Рис. Кинетические кривые накопления пестицидов в октаноле

1 – лонтрел; 2 – зенкор; 3 – базагран; 4 – раундап; 5 – кузагард; 6 – сетоксидим

3, 6, 12 и 18 месяцев. Между измерениями растворы хранили при комнатной температуре.

Все эксперименты выполнены в трёх повторностях. Погрешность эксперимента не превышала 10% во всех сериях опытов.

Результаты и обсуждение. В табл. 2 представлены величины констант распределения октанол-вода ($K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$), определённые через 20 мин после перемешивания водного раствора пестицида с октиловым спиртом и в конце наблюдения (через 18 месяцев). Наибольшую липофильность — способность в большей степени растворяться в жирной фазе — октанол проявляют зенкор и базагран. $K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}} = 66,57$ и $52,19$, соответственно, у них самые высокие. Далее по величинам липофильности изученные пестициды располагаются в следующей последовательности: зенкор > базагран > сетоксидим > лонтрел > раундап > кузагард.

Ранее нами установлена высокая устойчивость пестицидов в водных растворах [3]. Однако в литературе отсутствуют данные о кинетике их накопления в окружающей среде и биологических объектах. Рассмотренный нами в настоящей работе процесс перехода пестицидов из воды в октанол — неполярную фазу характеризовался во времени несколькими стадиями с различными скоростями переноса. На рис. представлены кинетические кривые накопления пестицидов в *n*-октанол. У всех рассмотренных соединений ярко выражено наличие двух, а у некоторых соединений — трёх, участков с различными скоростями процесса. В первые 20 мин относительная скорость изменения концентрации у всех соединений максимальна: около 98% зенкора и базаграна, 90% сетоксидима переходят из водной фазы в *n*-октанол. На следующем временном отрезке от 20 мин до 6 месяцев скорость перехода пестицидов из воды в неполярную фазу существенно падает, и процесс приближается к насыщению. У сетоксидима и раундапа на кинетических кривых имеется третий перелом после 6 месяцев, когда скорость диффузии ещё раз снижается (для раундапа более чем в два раза).

За год измерений 5% лонтрела линейно переходят в *n*-октанол. До 25% кузагарда и 30% раундапа накапливаются в неполярной фазе за 18 месяцев. Однако для всех рассмотренных соединений и после 18 месяцев наблюдения процесс накопления их в неполярной фазе не выходит на равновесное стационарное состояние, переход веществ из водного раствора в октанол, явно продолжается и в дальнейшем.

В табл. 2 представлены значения скоростей перехода веществ в неполярную фазу на всех трёх участках. По величинам скоростей накопления пестицидов в октанол (V , М/час) на первом участке — V_1 , все рассмотренные соедине-

Таблица 1

Названия, исходные концентрации, максимумы длин волн поглощения и коэффициенты экстинкции пестицидов

| Название пестицида промышленное (номенклатурное действующего вещества) | $C_{\text{исх}}$, М | λ , нм | ϵ , л/моль | |
|--|----------------------|----------------|--------------------------------------|-------------------|
| | | | в воде | в октанол |
| Лонтрел (3,6-дихлорпикалиновая кислота) | $1 \cdot 10^{-2}$ | 283 | $3,5 \cdot 10^3$ | $3,9 \cdot 10^3$ |
| Зенкор (4-амино-6-трет-бутил-3-метилтио-1,2,4-триазинон-5) | $1 \cdot 10^{-2}$ | 292 | $7,3 \cdot 10^3$ | $7,0 \cdot 10^3$ |
| Базагран (3-изопропилбензо-2,1,3-тиадиазинон-4-диоксид-2,2) | $1 \cdot 10^{-3}$ | 332 | $2,1 \cdot 10^3$ | $8,5 \cdot 10^2$ |
| Раундап (N-фосфонометилглицин) | $1 \cdot 10^{-2}$ | 212 | $6,2 \cdot 10^1$ | $4,9 \cdot 10^1$ |
| Кузагард (аллоксидим натрия) | $2,4 \cdot 10^{-2}$ | 289 | $1,7 \cdot 10^4$ | $2,9 \cdot 10^3$ |
| Сетоксидим (2-[1-(этоксимино)бутил]-5-[2-(этилтио)пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1-один) | $1 \cdot 10^{-3}$ | 286 | $1,04 \cdot 10^4$ | $1,04 \cdot 10^2$ |
| Металлокомплексы: | | | | |
| Cu(лонтрел) ₂ Co(лонтрел) ₂ | $1 \cdot 10^{-2}$ | 281 | $4,0 \cdot 10^3$ $3,8 \cdot 10^3$ | |

**Константы распределения октанол/вода, коэффициенты биоаккумуляции
и скорость накопления пестицидов в октаноле**

| Название вещества | $K_{окт/Н_2O}$, 20 минут | $K_{окт/Н_2O}$, 18 месяцев | КБ | $V_1 \cdot 10^{-3}$, Мчас ⁻¹ , 20 мин | $V_2 \cdot 10^{-8}$, Мчас ⁻¹ , 6 м-цев | $V_3 \cdot 10^{-8}$, Мчас ⁻¹ , 18 м-цев | $K_{н/обр} \cdot 10^{-3}$, М ⁻¹ [11] |
|-------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------|--|---|--|---|
| Зенкор | 66,57±2,0 | 100,4±3,0 | 0,99±0,01 | 32,84 | 0,37 | 0,37 | 26,5±3,3 |
| Лонтрел | 2,56±0,1 | 3,38±0,1 | 0,77±0,03 | 23,97 | 4,06 | 4,06 | 15,9±2,0 |
| Кузагард | 0,30±0,01 | 0,77±0,03 | 0,44±0,01 | 18,47 | 46,10 | 32,60 | 9,7±0,5 |
| Раундап | 0,46±0,014 | 2,27±0,07 | 0,69±0,02 | 10,50 | 42,67 | 18,90 | 8,2±1,2 |
| Сетоксидим | 7,83±0,23 | 25,00±0,8 | 0,96±0,03 | 2,96 | 0,58 | 0,58 | 5,0±0,3 |
| Базагран | 52,19±1,8 | 70,4±2,12 | 0,99±0,01 | 3,27 | 0,04 | 0,04 | 4,7±0,4 |

ния могут быть расположены в следующий ряд:
зенкор > лонтрел > кузагард > раундап > базагран > сетоксидим.

Для моделирования процесса биоаккумуляции $K_{окт/Н_2O}$ измерения повторяли через 15 и 30 суток, 3, 6, 12, 18 месяцев. Отношение максимальной концентрации пестицидов в октаноле к исходной концентрации в водном растворе обозначен нами как коэффициент биоаккумуляции $КБ = [C_{18_{окт}}]/[C_{исх}]$. Рассчитанные значения КБ представлены в табл. 2. Минимальное значение КБ = 0,44 получено для кузагарда, а наибольшее = 0,99 – для зенкора и базагранна. Последовательность веществ по убыванию КБ: зен-

кор = базагран > сетоксидим > лонтрел > раундап > кузагард, соответствует последовательности этих веществ по значениям их липофильности (или $K_{окт/Н_2O}$) и остаётся неизменным для всех рассмотренных соединений в течение всего периода наблюдений.

Полученные зависимости дают определённые представления о возможном распределении пестицидов между липидами биомембран и внеклеточным раствором данных соединений.

В литературе представлены данные только для трёх из изучавшихся нами соединений: базагранна, зенкора и раундапа. В табл. 3 приведены величины токсичности этих препаратов по отно-

Дозы базагранна, зенкора и раундапа, аккумулирующиеся в различных организмах

| Вещество | Общее имя | Научное название | Жизненная стадия | Время | Токсич. доза, 10 ⁻⁶ | | Ссылка | |
|-------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------|------------|--------------------------------|-------|--------|----|
| | | | | | г/л | м/л | | |
| <i>Ракообразные</i> | | | | | | | | |
| Базагран | <i>Fiddler crab</i> | <i>Uca minax</i> | не указ. | 11 дней | 86 | 0,358 | 21 | |
| <i>Водные насекомые</i> | | | | | | | | |
| Базагран | <i>Southern house mosquito</i> | <i>Culex quinquefasciatus</i> | не указ. | 30 дней | 86 | 0,358 | 21 | |
| <i>Зоопланктон</i> | | | | | | | | |
| Базагран | <i>Water flea</i> | <i>Daphnia magna</i> | | 30 дней | 86 | 0,358 | 21 | |
| <i>Водоросли</i> | | | | | | | | |
| Зенкор | <i>Green algae</i> | <i>Chlorella fusca</i> | | 24 часа | 51 | 0,238 | 22 | |
| | | <i>Chlorella fusca vacuolata</i> | | 24 ч | 50 | 0,233 | 23 | |
| Базагран | <i>Algae, algal mat</i> | <i>Algae</i> | | 30 дней | 86 | 0,358 | 21 | |
| <i>Рыбы</i> | | | | | | | | |
| Зенкор | <i>Carp</i> | <i>Leuciscus idus melanotus</i> | 5–6 см, 1,5 г | 3 дней | 54 | 0,225 | 23 | |
| | <i>Ide, silver or golden orfe</i> | <i>Leuciscus idus</i> | 2–5 г | 3 дней | 54 | 0,225 | 22 | |
| Раундап | <i>Cyprinus carpio</i> | <i>Cyprinus carpio</i> | | 3,5–4,0 см | 0,5 дней | 531 | 3,14 | 24 |
| | | | | 3,5–4,0 см | 1 дней | 508 | 3,004 | |
| | | | | 3,5–4,0 см | 2 дней | 518 | 3,063 | |
| | | | | 3,5–4,0 см | 3 дней | 344 | 2,034 | |
| | | | | 3,5–4,0 см | 5 дней | 264 | 1,561 | |
| | | | | 3,5–4,0 см | 7 дней | 110 | 0,651 | |
| | | | | 3,5–4,0 см | 14 дней | 151 | 0,893 | |

шению к различным видам многоклеточных организмов, полученные по параметру «аккумуляция». Прежде всего, обращает на себя внимание, что одна и та же токсичная доза базагран, аккумулируется в различных видах организмов: в ракообразных, водных насекомых, зоопланктоне или водорослях. Токсический эффект наступает при аккумулировании $86 \cdot 10^{-6}$ г/л ($0,358 \cdot 10^{-6}$ м/л) этого соединения.

На рыбах и водорослях проверялся не один лишь базагран. Как видно из табл. 3, по отношению к водорослям, зенкор набирает токсичную для *Chlorella fusca* концентрацию ($51 \cdot 10^{-6}$ г/л; $0,238 \cdot 10^{-6}$ м/л) за 24 часа, в то время, как базагран свою — несколько более высокую дозу токсичности, только за 30 дней. Зенкор и раундап исследовали на разных породах рыб. Зенкор — на *Leuciscus idus melanotus*; а раундап — на *Cyprinus carpio*. Тем не менее, если сравнивать за один срок воздействия — 3 дня, то аккумулирующаяся токсичная доза у раундапа в 6 (в г/л) — 10 (в м/л) раз выше, чем у зенкора. Таким образом, токсичность этих трёх соединений по параметру «аккумуляция» в общем виде уменьшается в последовательности: зенкор > базагран > раундап.

Если сравнить этот ряд с данными табл. 2, то видно, что в той же последовательности убывают значения $K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$. Следовательно, гипотетически можно проэкстраполировать выше представленный ряд, предположив, что величина аккумулирования исследовавшихся препаратов будет уменьшаться в ряду $K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$: зенкор > базагран > сетоксидим > лонтрел > раундап > кузагард.

Для анализа полученных результатов в табл. 2 приведены значения констант комплексообразования пестицидов с ϵ -АТФ ($K_{\text{к/обр}}$), полученные нами ранее [10]. Видно, что соединения, характеризующиеся высокими значениями $K_{\text{к/обр}}$, обладают большей скоростью накопления в октанол, т. е. значения скоростей перехода пестицидов в октанол в первые 20 минут после перемешивания имеют прямую корреляцию со значениями констант комплексообразования этих соединений с ϵ -АТФ — их способности к образованию комплексов с функциональными структурами живой клетки: АТФ, НАДН, ДНК, РНК [10, 11]. По-видимому, причиной этого является высокая химическая реакционная способность пестицидов.

Поскольку построение липидного бислоя различных клеточных мембран принципиально одинаково, полученные результаты позволяют предположить, что *in vivo* в биологических системах, рассмотренные токсиканты будут образовывать комплексы с липидами клеточных мембран. В частности, образование комплекса пестицида с фосфатидилхолином состава 1:1 уста-

новлено в работах [25–28]. Такие данные имеются по паратиону и малатиону [29, 30], ДДТ [31, 32], метоксихлору [33] и 2,4-Д [34] — соединений с близким химическим строением.

По величинам $K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$ рассмотренные соединения можно разделить на две части. Первая группа — зенкор, лонтрел, кузагард, раундап, у которых значения $K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$ коррелируют с величинами $K_{\text{к/обр}}$. Вторая группа веществ — базагран и сетоксидим, имеющие высокие значения липофильности, не коррелирующие с их комплексообразующей способностью. Возможно, что вещества первой группы образуют комплексы с жирами, а второй — имеют, кроме того, другие формы взаимодействия. С другой стороны, степень биоаккумуляции коррелирует с величинами $K_{\text{окт}/\text{H}_2\text{O}}$ рассмотренных соединений.

Заключение. С экологической точки зрения важно отметить, что вещества, отнесённые к первой группе (зенкор, лонтрел, кузагард, раундап), обладают суммой свойств: высокой способностью к комплексообразованию, и высокой липофильностью, что должно обуславливать их значительную токсикологическую опасность для живых организмов и окружающей нас природы. Процесс перехода изученных токсикантов в неполярную фазу продолжался в течение всего времени наблюдения — 18 месяцев, со значительной скоростью, не достигая предела.

Список литературы

1. **Коптюг В.А.** Конференция ООН по окружающей среде и развитию (Рио-де-Жанейро, июнь 1992 г.): Информ. обзор СО РАН. — Новосибирск, 1992. — 62 с.
2. **Скурлатов Ю.И., Дука Г.Г., Мизити А.** Введение в экологическую химию. — М.: Высш. шк., 1994. — 400 с.
3. **Саратовских Е.А., Козлова Н.Б., Папин В.Г. и др.** Разложение гербицида лонтрел биологически и фотохимическими методами // Прикладная биохимия и микробиология, 2006. — Т. 42. — № 1. — С. 44–51.
4. **Саратовских Е.А., Психа Б.Л., Гвоздев Р.И.** Пестициды и окружающая среда // Вестник БГТУ, 2004. — № 8. — Ч. 1. — С. 38–40.
5. **Яблоков А.В.** Ядовитая приправа. — М.: Мысль, 1990. — С. 27.
6. **Котык А., Яначек К.** Мембранный транспорт. Пер. с англ. — М.: Мир, 1980. — С. 189–192.
7. **Голубев В.Н.** Механизмы взаимодействия пестицидов с липидным бислоем клеточных мембран // Успехи химии, 1993. — Т. 62. — № 7. — С. 726–734.
8. **Panasenko O.M., Zorina O.M., Gendel' L.Ia.** Effect of pesticides on the acetylcholinesterase of erythrocytes and their plasma membranes // Izv. Akad. Nauk. SSSR. Biol., 1984. — № 2. — P. 210–216.
9. **Miyoshi H., Nishioka T., Fujita T.** Quantitative

analysis of effect of substituted phenols on membrane characteristics of lecithin liposomes // *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 1986. — V. 59. — P. 1099-1107.

10. **Саратовских Е.А., Кондратьева Т.А., Психа Б.Л. и др.** Комплексообразование некоторых пестицидов с аденозинтрифосфорной кислотой // *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 1988. — № 11. — С. 2501-2507.

11. **Саратовских Е.А., Личина М.В., Психа Б.Л. и др.** О характере взаимодействия ди- и полинуклеотидов с некоторыми пестицидами // *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 1989. — № 9. — С. 1984-1989.

12. **Алиев З.Г., Атовмян Л.О., Саратовских Е.А. и др.** Синтез, структура и спектральные характеристики комплексов меди с производными пиколиновой кислоты // *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 1988. — № 11. — С. 2495-2501.

13. **Warshavsky A., Rogachev I., Patil Y. et al.** Copper-specific chelators as synergists to herbicides: 1. Amphiphilic dithiocarbamates, synthesis, transport through lipid bilayers, and inhibition of Cu/Zn superoxide dismutase activity // *Langmuir*, 2001. — T. 17. — № 18. — P. 5621-5635.

14. **Utsuvi Y., Kiyoshige K., Shimbara S. et al.** Comparative-studies on cytotoxicity of micropollutants in water — principle of cytotoxicity matrix // *Environ. Toxicol. water quality*, 1994. — V. 9. — № 4. — P. 333-339.

15. **Fliedner A.** Ecotoxicity of poorly water-soluble substances // *Chemosphere*, 1997. — V. 35. — № 1-2. — P. 295-305.

16. **Юданова Л.А.** Пестициды в окружающей среде. Аналитический обзор. — Новосибирск: Изд. ГПНТБ СО АН СССР, 1989. — С. 47.

17. **Saceres O., Galizia T.J., Castellan O.A.M.** Residues of organochloric pesticides in reservoirs in Sao Paulo State // *Cienc. E. Cult.*, 1987. — V. 39. — № 3. — P. 259-264.

18. **Бобовникова Ц.И.** Влияние глобальных выпадений на загрязнение реки малого водосбора хлороорганическими пестицидами // *Тр. Ин-та эксп. метеорол.* — Л.: Гидрометеоиздат, 1983. Вып. 11 (97). — С. 39-44.

19. **Брагинский Л.П., Комаровский Ф.Я., Пешола Ю.К. и др.** Миграция стойких пестицидов в пресноводных экосистемах // 2-е Всесоюз. совещ. по исслед. миграции загрязн. веществ в почвах и сопредельных среда. — Л.: Гидрометеоиздат, 1980. — С. 226-230.

20. **Саратовских Е.А.** Синтез бидентантных комплексов 3,6-дихлорпиколиновой кислоты // *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 1989. — № 10. — С. 2327-2329.

21. **Booth G.M., Yu C.C., Hansen D.J.** Fate, metabolism, and toxicity of 3-isopropyl-1H-2,1,3-benzothiazin-4(3H)-1-2,2-dioxide in a model ecosystem // *J. Environ. Qual.*, 1973. — V. 2. — № 3. — P. 408-411.

22. **Korte F., Freitag D., Geyer H. et al.** A Concept for Establishing Ecotoxicologic Priority Lists for Chemicals // *Chemosphere*, 1978. — V. 7. — № 1. — P. 79-102.

23. **Freitag D., Geyer H., Kraus A., Viswanathan R. et al.** Ecotoxicological Profile Analysis VII. Screening Chemicals for Their Environmental Behavior by Comparative Evaluation // *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 1982. — V. 6. — P. 60-81.

24. **Wang Y.S., Jaw C.G., Chen Y.L.** Accumulation of 2,4-D and Glyphosate in Fish and Water Hyacinth // *Water Air Soil Pollut.*, 1994. — V. 74. — № 3/4. — P. 397-403.

25. **Hilton B.D., Brien R.D.O.** The effect of DDT and its analogs upon lecithin and other monolayers // *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1973. — V. 3. — № 2. — P. 206-210.

26. **Arold W.M., Zimmerman U., Pauli W. et al.** The comparative influence of substituted phenols (especially chlorophenols) on yeast cells assayed by electro-rotation and other methods // *Biochim. Biophys. Acta*, 1988. — V. 942. — № 1. — P. 83-95.

27. **Gabrielska J., Kuczera J., Oswiecimska M. et al.** Effect of alkyl chain length in alkoxyethyltrimethylammonium chlorides on ion transport across liposome membranes // *Stud. Biophys.*, 1981. — V. 82. — № 2. — P. 149-156.

28. **Omman G., Lakowicz J.R.** Interactions of chlorinated hydrocarbon insecticides with membranes // *Biochim. Biophys. Acta*, 1982. — V. 684. — P. 83-89.

29. **Fisher D.J.** Charges on fungal spores // *Pestic. Sci.*, 1973. — V. 4. — № 6. — P. 845-852.

30. **Venis M.A., Blackman G.E.** VIII. Accumulation of chlorinated benzoic acids by Avena segments: a possible mechanism for the transient phase of accumulation // *J. Exp. Bot.*, 1966. — V. 17. — № 53. — P. 771-778.

31. **Leo A.** Partitioning in pesticide mode of action and environmental problems. In: *Pesticide synthesis through rational approaches* / Eds Magee P.S., Kohn G.K., Menn J.J. Washington.: Am. Chem. Soc., 1984. — P. 213-218.

32. **Kennedi C.D., Stemart R.A.** The effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on ion uptake by maize roots // *J. Exp. Bot.*, 1980. — V. 31. — № 120. — P. 135-143.

33. **Antunes-Madeira M.C., Madeira V.M.C.** Partition of lindane in synthetic and native membranes // *Biochim. Biophys. Acta*, 1985. — V. 820. — P. 165-176.

34. **Голубев В.Н., Контуш А.С.** Ионная избирательность бислойных липидных мембран, модифицированных трифорином // *Биофизика*, 1989. — Т. 34. — № 1. — С. 42-53.

Материал поступил в редакцию 28.03.07.

Ye.A.Saratovskikh, N.B.Kozlova

STUDIES ON ACCUMULATION OF PESTICIDES IN FATTY PHASE

Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Moscow Region
 Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow

Partition constants of o-tanol/water for a number of pesticides widely used in the agricultural practice were determined. These pesticides include Lontrel, Sencor, Basagran, Roundup, Kusagard, Sethoxydim. It was shown that compounds under consideration accumulate in the fatty layer. The kinetics of their accumulation was studied; accumulation rates in a non-polar phase which correlate with values of the complex-formation constants of the same compounds were estimated. The formation of complexes with a fatty phase (lipid portion) in cellular membranes induces bioaccumulation of toxicants. The process of transition of toxicants under consideration into the non-polar phase prolonged at a significant speed over all the time of observation – 18 months.

УДК 615.099:615.9:577.472

В.Б.Долго-Сабуров, Н.П.Подосиновичева, В.В.Петров, В.В.Трефилов, В.А.Беляев

К СРАВНИТЕЛЬНОЙ ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ КСЕНОБИОТИКОВ

ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России, С.-Петербург

Проведено исследование токсического действия ряда физиологически активных веществ на гидробионтов *Daphnia Magna Straus*. Анализ токсиметрических кривых – времени гибели дафний как функции обратной концентрации токсиканта – выявил у всех исследованных препаратов в широком диапазоне концентраций наличие от одного до нескольких прямолинейных участков, допускающих простую аппроксимацию.

Ключевые слова: токсиметрия, дафнии, ксенобиотики.

Введение. При исследовании токсичности химических соединений, как правило, используется определение средних доз или концентраций, вызывающих гибель определенного процента животных за фиксированный промежуток времени. Подобная информация часто оказывается недостаточной для сравнительной оценки действия препаратов и отбора средств фармакологической коррекции. В настоящем исследовании рассмотрен подход к оценке токсического действия, состоящий в анализе зависимости времени гибели от уровня токсического воздействия в широком диапазоне концентраций и в выявлении участков, допускающих линейное описание.

Материалы и методы исследования. Опыты были поставлены на гидробионтах *Daphnia magna Straus*. Разведение дафний осуществляли в соответствии с требованиями международного стандарта по биотестированию воды [1]. Дафний в возрасте 7 суток помещали в лабораторные стаканчики с растворами тестируемых препаратов различной концентрации по одной особи в каждую пробу объемом 40 мл. Фиксировали время от внесения дафний в пробу до момента её гибели. При наблюдении более двух суток дафний кормили. Исследуемые концентрации изменялись с шагом 0,1 по логарифмической шкале. Каждую концентрацию исследовали, как правило, не менее чем на 10 дафниях. Все иссле-

дованные концентрации вызывали 100% гибель дафний, что позволяет корректно рассчитывать среднее время гибели.

Результаты исследований представлены в виде графиков зависимости среднего времени гибели (Т, мин) от величины обратной концентрации токсиканта (1/С, л/моль) [2]. Выбор обратных величин по оси абсцисс является принципиальным моментом: именно такой масштаб позволяет выявить на графиках прямолинейные участки, допускающие содержательную интерпретацию.

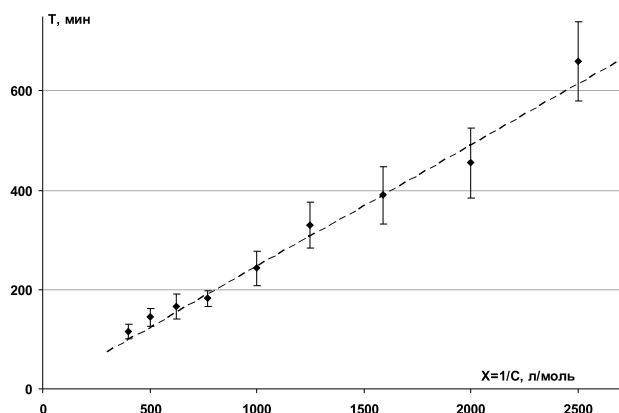


Рис. 1. Среднее время гибели дафний при различных разведениях (обратных концентрациях) ареколина. Пунктиром показана аппроксимирующая прямая

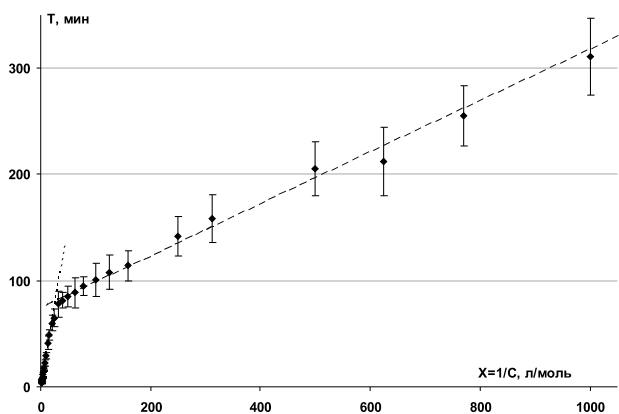


Рис. 2. Среднее время гибели дафний при различных разведениях гидропероксида. Пунктирными линиями показаны две аппроксимирующие прямые

Результаты и обсуждение. Оценка токсического действия была проведена для ряда препаратов, представляющих различные группы физиологически активных соединений: лиганда холинергической медиаторной системы ареколина, лиганда дофаминергической системы дофамина и экзогенных токсикантов – препарата N-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП), вызывающего у млекопитающих снижение дофаминергической иннервации, и прооксиданта гидропероксида.

У всех исследованных препаратов на графиках зависимости среднего времени гибели тест-объекта (Т, мин) от величины обратной концентрации токсиканта ($X = 1/C$, моль⁻¹) достоверно выявляется от одного до нескольких линейных участков. Поскольку величина $X = 1/C$ широко используется в дальнейшем, удобно присвоить ей собственное название – разведение. В используемых координатных осях соответствующие линейные зависимости описываются уравнением прямой $T = a + b/C$. Коэффициент b характеризует угол наклона прямой. Коэффициент a определяет условное «минимальное время реализации летального эффекта», т. е. время гибели при бесконечно высокой концентрации токсиканта при условии, что данная линейная зависимость справедлива в области $1/C \rightarrow 0$.

Диапазоны концентраций, соответствующие прямолинейным участкам, для всех исследованных препаратов достаточно широки и составляют от половины десятичного порядка до порядка и более. Структура токсикометрической кривой в целом специфична для каждого препарата и может иметь различную степень сложности.

Наиболее простая зависимость получена у ареколина. Диапазон исследованных концентраций для него составил от $2,5 \cdot 10^{-3}$ до $4,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л (что соответствует диапазону разведений от 400 до 2500 л/моль). На рис. 1 представ-

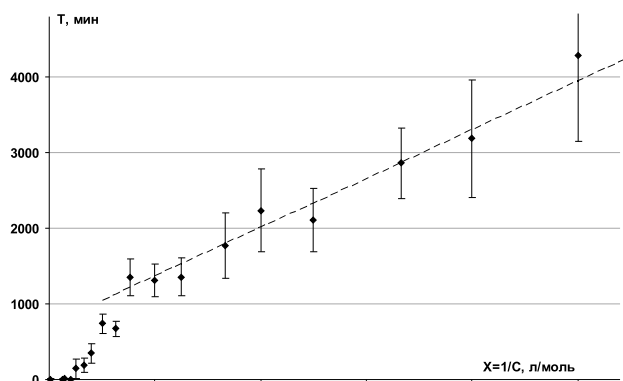


Рис. 3. Среднее время гибели дафний при различных разведениях МФТП. Пунктиром показана аппроксимирующая прямая

лен график, показывающий среднее время гибели дафний.

Полученные результаты соответствуют известному закону Габера: экспериментальные точки с высокой достоверностью ложатся на прямую, описываемую уравнением $T = b/C$ ($b = 0,245$ мин·моль). Такая форма зависимости впервые была обнаружена при ингаляционном токсическом поражении. В условиях используемой нами методики токсикант присутствует в постоянной концентрации в среде содержания тест-объекта и, по существу, кинетика поступления здесь такая же.

Закон Габера можно интерпретировать так: гибель наступает, когда организм набирает летальную токсическую экспозицию, которая численно как раз равна коэффициенту b . Коэффициент b фактически характеризует «степень токсичности»: чем он меньше, тем меньшая концентрация токсиканта нужна для обеспечения летального эффекта за заданное время, тем сильнее его действие.

Однако такая простая зависимость – скорее исключение, чем правило. Так, гидропероксид демонстрирует более типичную форму. Для него исследованный диапазон концентраций составил от 1,0 до 0,001 моль/л, полученные результаты представлены на рис. 2.

Экспериментальные точки с высокой достоверностью укладываются на ломаную линию, образованную двумя отрезками прямых. При малых разведениях от 1 до 20 л/моль – в диапазоне концентраций от 1,0 до 0,05 моль/л – график соответствует обычному закону Габера $T = b/C$ ($b = 2,97$ мин·моль). При больших разведениях наклон прямой резко меняется и появляется значимая постоянная составляющая. Уравнение прямой здесь имеет вид $T = a + b/C$ ($a = 74,2$ мин, $b = 0,244$ мин·моль).

Такой вид графика можно интерпретировать

так. Предположим, в организме дафнии имеются две мишени токсического действия. Первая довольно устойчива к неблагоприятным воздействиям (требуется высокая экспозиция для её поражения), но её выход из строя вызывает незамедлительную гибель. Вторая мишень более чувствительна, ей опасны значительно меньшие экспозиции, но её поражение, даже полное, не вызывает гибели сразу, а требует времени для реализации летального исхода.

При высоких концентрациях поражаются обе мишени, однако летальный эффект связан с первой из них, так как проявляется тут же. При снижении концентрации время, необходимое для поражения первой мишени, становится сопоставимым с временем наступления летального эффекта при поражении второй. Наконец, при ещё более низких концентрациях поражение первой мишени даже не успевает наступить, и летальный эффект целиком обязан поражению второй мишени.

Наличие нескольких прямолинейных участков оказалось характерным и для других токсикантов. Однако нередко картина оказывается более сложной. Два следующих препарата, дофамин и МФТП, выявляют наличие переходных участков. МФТП был исследован при концентрациях от 80 до 0,2 моль/л, полученные результаты представлены на рис. 3.

Видно, что основная масса экспериментальных точек ложится на прямую $T = a + b/C$ ($a = 720$ мин, $b = 645$ мин·моль). Однако при высоких концентрациях от 80 до 5,0 моль/л время гибели дафний не меняется и составляет 6–8 мин; при дальнейшем снижении концентрации оно возрастает, но вплоть до 2,0 моль/л зависимость имеет нелинейный вид.

При анализе исходных данных выявилась следующая картина: на этом участке часть дафний погибает очень быстро, за 8–16 мин, другая часть – значительно позже, через 300–700 мин. При снижении концентрации доля первых сокращается, вторых увеличивается. Это можно объяснить тем, что здесь проявляются два механизма летальности. С понижением концентрации «быстрый» механизм постепенно перестаёт действовать и замещается другим, приводящим

к гибели в значительно более отдалённые сроки.

Похожая по форме зависимость обнаруживается и у дофамина. Он был исследован в дозах от 0,03 до 0,004 моль/л. В области больших разведений от 125 до 250 л/моль характер графика соответствует закону Габера: $T = b/C$ ($b = 2,82$ мин·моль). При самых малых разведениях – 30, 40 и 50 л/моль – время гибели удерживается на уровне 8–9 мин. В промежуточном диапазоне отмечается аналогичное нелинейное поведение.

Заключение. Экспериментальные данные, полученные для ряда токсических веществ, убедительно свидетельствуют, что графики зависимости времени гибели T от величины обратной концентрации $1/C$ содержат, как правило, один или несколько линейных участков, в пределах которых данная зависимость выражается линейной формулой $T = a + b/C$. Коэффициенты a и b можно рассматривать как показатели токсического действия данного вещества в некотором диапазоне концентраций; их значение позволяет рассчитывать ожидаемый токсический эффект.

Каждый линейный участок, по всей видимости, соответствует определённому, доминирующему в данном диапазоне концентраций, механизму токсического действия, реализующему летальный эффект.

Авторы полагают, что предложенный подход может быть особенно полезен при отборе средств фармакологической коррекции для каждого из механизмов токсического действия, соответствующих отдельным линейным участкам.

Работа выполнена при частичной поддержке грантом РФФИ № 06-04-48639.

Список литературы

1. *Международный стандарт. Качество воды. Определение угнетения подвижности Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacera). ИСО 6341, 1987.*

2. *Петров В.В., Подосиновикова Н.П., Долго-Сабуров В.Б. Патент на изобретение № 2256910 от 19.06.2003 г. Способ определения чувствительности гидробионтов Daphnia magna Straus к токсическому воздействию водорастворимых химических веществ.*

Материал поступил в редакцию 27.03.07.

V.B.Dolgo-Saburov, N.P.Podosinovicova, V.V.Petrov, V.V.Trefilov, V.A.Belyaev

ABOUT COMPARATIVE ASSESSMENT OF TOXICITY OF XENOBIOTICS

Federal State Scientific Establishment «Toxicology Institute», St. Petersburg

Toxic effects of a number of physiologically active substances on hydrobios *Daphnia Magna Straus* were studied. The analysis of toxicometric curves showing the time of death of *Daphnia* as a function inverse to a toxicant concentration revealed the presence of one to several rectilinear sections with all preparations investigated within a large range of concentrations which makes it possible to use a simple approximation.

М.Г.Таликина, Ю.Г.Изюмов

ВЛИЯНИЕ СВЕРХМАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НИТРОЗОГУАНИДИНА НА МИТОТИЧЕСКОЕ ДЕЛЕНИЕ ЗАРОДЫШЕВЫХ И СПЕРМАТОГОНИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПЛОТВЫ

Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН, пос. Борок, Ярославская обл.

Воздействие сверхмалых концентраций нитрозогуанидина на ранние стадии развития плотвы является чувствительным тестом на мутагенность и способность вызывать продленный негативный эффект. Для корректной оценки острого и продленного эффектов чужеродных химических соединений целесообразно применение нескольких концентраций, при воздействии которых минимальное и максимальное количество тестируемого вещества, должно отличаться на значительное число порядков. Сужение концентрационного ряда в эксперименте может приводить к неверным выводам из-за переменной направленности знака эффектов.

Ключевые слова: митоз, бластомеры, сперматогонии, хромосомные аберрации.

Введение. У высших животных реакции на сверхнизкие концентрации биологически активных веществ имеют ряд специфических особенностей. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в пределах $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-20}$ М они могут быть близки по силе действия концентраций, превосходящих их на многие порядки, кроме того, в ряду концентраций могут возникать «мертвые зоны», в которых ответ отсутствует, либо его величина и знак неустойчивы при неизменных условиях воздействия [1, 2, 3].

Влияние низких и сверхнизких концентраций биологически активных соединений на рыб мало изучено. Между тем, опыты на эмбрионах плотвы *Rutilus rutilus* выявили сходные парадоксальные тенденции изменений ряда анатомических, морфофункциональных, гистофизиологических и биохимических характеристик опытной молодежи при остром воздействии низких концентраций хлорофоса [4, 5].

В эмбриотоксических исследованиях важное место занимает аспект отдаленного негативно-го влияния поллютантов на развивающийся организм и, прежде всего, характер его проявления в наследственных структурах.

В настоящем сообщении приведены результаты опытов с привлечением широкого концентрационного ряда N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина (MNNG) – метилирующего агента прямого действия на химическую структуру ДНК, влияющего в ряде случаев на генетические свойства хромосом [6, 7]. В работах по индуцированному канцерогенезу у рыб минимальная из использованных концентрация этого химического мутагена составляла 5 мкг/л [8, 9, 10], в наших опытах использованы концентрации на несколько порядков ниже.

Нас интересовали эффекты прямого и опосредованного влияния сверхнизких количеств MNNG на наиболее значимые цитогенетические характеристики в раннем онтогенезе плотвы. С этой целью проанализированы пролиферативная активность и частота встречаемости aberrантных митозов бластомеров зародышей и сперматогониев у 4-месячной молодежи плотвы.

Материалы и методы исследования. Для опытов использовали осемененную икру от 6 самцов и 5 самок, выловленных на нерестилище Рыбинского водохранилища. После осеменения икру (около 3 тыс. для каждого из вариантов) поместили в кристаллизаторы и после набухания и приклеивания залили равными объемами растворов речной воды, содержащих 0,0, 0,0003, 0,003, 0,03, 0,3, 3, 30 и 300 мкг/л MNNG. Экспозиция зародышей в токсических средах при температуре инкубации 14,5–16°C продолжалась 48 ч. Приготовление растворов и их смену проводили дважды в сутки. После утилизации желточного мешка личинки были высажены в однотипные выростные пруды с естественной кормовой базой, где они находились в течение 4-мес.

Эмбриональные митозы изучены у зародышей в возрасте 24 ч (стадия поздней бластулы) после их фиксации в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты (3:1). Цитогенетический анализ проводили на тотальных давленных препаратах, окрашенных ацетоорсеином [11]. Подсчитывали общее число зародышевых клеток, а также число метафаз, анафаз и телофаз в норме и с видимыми хромосомными нарушениями. К ним относят, главным образом, хромосомные и хроматидные мосты и полумосты, отставание хромосом при расхождении к полюсам, наличие их отдельных фрагментов в цитоплазме [12]. Анализ хода митоза сперматогонияльных клеток у

4-месячной молодежи проводили на депарафинированных гистологических срезах семенников толщиной 4–5 мкм, окрашенных железным гематоксилином по Гейденгайну [13], при увеличении об. 100, ок. 10. Процедура подсчета была такой же, как и для бластомеров.

Показателем митотической активности служило общее число делящихся бластоцитов и сперматогониев в ‰. Долю нормальных и аберрантных митозов выражали в процентах от митотического индекса.

Результаты исследований и обсуждение. *Зародыши.* Значения митотического индекса и уровень частоты хромосомных аномалий митозов бластомеров приведены в табл. 1 и на рис. 1. Отличительной чертой профиля дозовой зависимости митотического индекса (рис. 1а) является ее нелинейный характер. При самой малой концентрации наблюдается стимуляция митотической активности, затем кривая приобретает U-образный характер с выходом на контрольный уровень в правой ее части. Частота встречаемости аберрантных митозов в этой части графика (рис. 1б), напротив, имеет тенденцию к снижению. Повышенное, по сравнению со спонтанным уровнем, число аберрантных митозов бластомеров, статистически значимо на протяжении всего дозового ряда. Ряд видимых цитогенетических отклонений митозов зародышевых клеток приведен на рис. 2.

Одна из характерных особенностей рассматриваемого дозозависимого ответа состоит в заметном провоцировании нарушений митотического процесса сверхмалыми количествами мутагена. По мере возрастания концентрации (рис. 1а), его негативное влияние неуклонно снижается. Что же касается хромосомных аберраций, то приближение их числа к контрольному уровню достигается в варианте с самой большой из примененных доз (300 мкг/л).

Сопоставление результатов влияния мутагенного фактора на митотическую активность развивающихся зародышей и частоту встречаемости дефектных митозов, не выявило статистически достоверной сопряженности между этими анализируемыми показателями. По крайней мере, в зоне действия первых трех сверхмалых доз токсиканта, она не выражена, поскольку достаточно высокий уровень цитогенетических нарушений имеет место как в условиях подъема, так и снижения процесса пролиферации бластомеров. В области же повышенных количеств мутагена, начиная с 0,3 мкг/л, по мере приближения величины митотического индекса к контрольным значениям, частота обнаружения цитогенетических патологий снижается. Возможно, эта ситуация в условиях повышенных количеств MNNG обусловлена более высоким уровнем ак-

тивности механизмов репарации, действие которых начинается со стадии поздней бластулы [14]. Можно также предположить, что на количественные показатели мутагенного эффекта оказывает влияние неодинаковый уровень элиминации аберрантных зародышевых клеток.

Сеголетки. Результаты цитогенетического анализа сперматогониев первой волны приведены

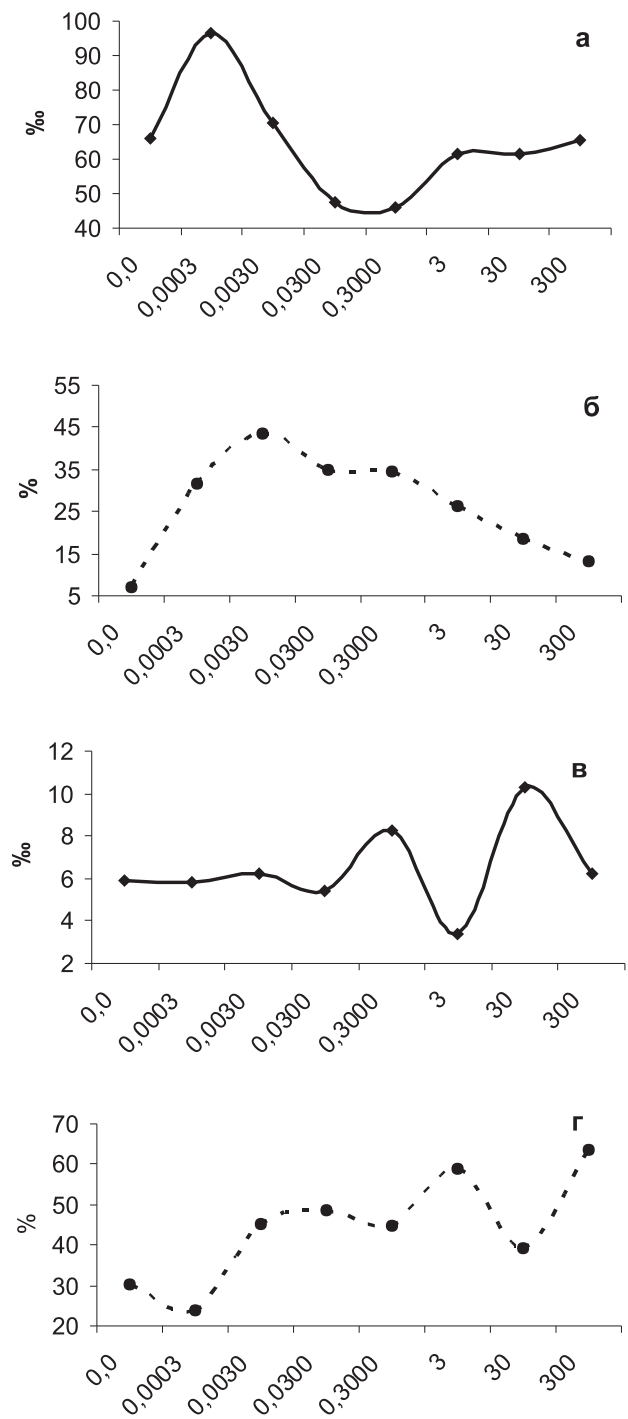


Рис. 1. Дозозависимые графики цитогенетических показателей бластомеров (а, б) и сперматогониев (в, г) плотвы при воздействии нитрозогуанидина

Сплошная линия – митотический индекс; пунктирная – аберрантные митозы; по оси абсцисс – концентрация MNNG, мкг/л

Частота встречаемости aberrантных митозов зародышевых клеток плотвы при воздействии нитрозогуанидина, $M \pm m$

| Концентрация MNNG, мкг/л | Число митозов в 1000 клеток | | Митотический индекс, ‰ | Число митозов, в % от митотического индекса | | Объем выборки | |
|--------------------------|-----------------------------|----------|------------------------|---|-----------|---------------|----------|
| | норма | аномалии | | норма | аномалии | бластомеры | зародыши |
| 0 | 61,5 | 4,6 | 66,1±5,5 | 92,9±0,7 | 7,1±0,7 | 8240 | 12 |
| 0,0003 | 66,1 | 30,3 | 96,4±6,9* | 68,5±0,6* | 31,5±0,6* | 7880 | 11 |
| 0,003 | 39,6 | 30,9 | 70,5±4,3 | 56,5±2,9* | 43,5±2,9* | 7565 | 11 |
| 0,03 | 31,0 | 16,6 | 47,6±0,4* | 65,1±0,1* | 34,9±0,1* | 8260 | 12 |
| 0,3 | 29,4 | 16,4 | 45,8±4,5* | 65,6±0,1* | 34,4±7,6* | 9400 | 14 |
| 3 | 45,4 | 16,1 | 61,5±4,6* | 73,7±3,5* | 26,3±3,5* | 6300 | 9 |
| 30 | 50,3 | 11,4 | 61,7±5,3 | 81,6±3,6* | 18,4±3,6* | 7850 | 11 |
| 300 | 56,9 | 8,4 | 65,3±4,5 | 86,8±2,6* | 13,2±2,6* | 7250 | 10 |

Примечание: * — здесь и в табл.2 различия с контролем достоверны при $p < 0,05$

Частота встречаемости aberrантных митозов сперматогониев плотвы при воздействии нитрозогуанидина, $M \pm m$

| Концентрация MNNG, мкг/л | Число митозов в 1000 клеток | | Митотический индекс, ‰ | Число митозов, в % от митотического индекса | | Объем выборки | |
|--------------------------|-----------------------------|----------|------------------------|---|-----------|---------------|------|
| | норма | аномалии | | норма | аномалии | СПГонии | рыбы |
| 0 | 4,2 | 1,7 | 5,9±0,9 | 69,7±3,8 | 30,3±3,9 | 20360 | 10 |
| 0,0003 | 4,6 | 1,2 | 5,8±2,2 | 76,1±3,6 | 23,9±3,6 | 15225 | 6 |
| 0,003 | 3,6 | 2,6 | 6,2±1,6 | 52,5±7,5* | 45,3±8,3* | 29925 | 9 |
| 0,03 | 3,2 | 2,2 | 5,4±1,2 | 51,4±8,3* | 48,6±8,3* | 25950 | 6 |
| 0,3 | 4,7 | 3,6 | 8,3±4,3 | 55,0±6,9 | 45,0±6,9 | 22050 | 5 |
| 3 | 1,3 | 2,1 | 3,4±0,6 | 41,1±6,4* | 58,9±6,4* | 12000 | 5 |
| 30 | 6,7 | 3,6 | 10,3±2,4 | 60,6±4,7 | 39,4±4,7 | 34200 | 8 |
| 300 | 2,4 | 3,8 | 6,2±1,1 | 36,4±4,5* | 63,6±4,5* | 19425 | 6 |

в табл. 2, и на рис. 1. На всем пространстве испытанных концентраций тестируемого мутагена нет однообразно выраженной тенденции ответов, изменения значений митотического индекса (рис. 1в) и частоты обнаружения патологий митоза (рис. 1г) носят колебательный характер. При этом, по сравнению с зародышевыми клетками, непостоянство ответной реакции наиболее заметно в зоне повышенных количеств MNNG. Однако нельзя не отметить достоверно значимое мутагенное влияние нитрозогуанидина на частоту

aberrантных митозов в вариантах с малыми его концентрациями — 0,003 и 0,03 мкг/л. Обращает также внимание отчетливо выраженная в правой части графика противофазность величин митотического индекса и числа сперматогониев с аномалиями митоза, в которой возрастание уровня одного из показателей совпадает с падением второго. Выявленная направленность ответов отмечена в диапазоне концентраций 0,3—300 мкг/л.

Установленный на сперматогониях экспериментальной молодежи плотвы пролонгированный



Рис. 2. Цитогенетические отклонения митотически делящихся бластомеров плотвы при воздействии нитрозогуанидина на стадии: а – метафазы, б – анафазы, в – телофазы

Ок. 10, об. 100х. Железный гематоксилин по Гейденгау

характер цитогенетических aberrаций, происхождение которых связывают с повреждением стволовых клеток в период эмбриогенеза, подтверждает известное мнение о том, что у рыб, в отличие от высших позвоночных, они сохраняются в ряду очень многих клеточных поколений [15, 16, 17].

Заключение. Воздействие сверхмалых концентраций испытанного токсического вещества на ранние стадии развития плотвы является чувствительным тестом на его мутагенность и способность вызывать продленный негативный эффект. Для корректной оценки острого и продленного эффектов целесообразно использование широкого ряда концентраций, в котором минимальное и максимальное количество тестируемого вещества должно отличаться на значительное число порядков. Сужение концентрационного ряда в эксперименте может приводить к неверным выводам из-за переменной направленности знака эффектов.

Список литературы

1. **Бурлакова Е.Б.** Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности // *Российский химический журнал*, 1999. — Т. XLIII. — № 5. — С. 3-11.

2. **Calabrese E.J., Boldwin L.A.** Tales of two hypotheses: the rise and fall of chemical and radiation hormesis // *Hum. And Exp. Toxicol.*, 2000. — V. 19. — № 1. — P. 85-97.

3. **Гуревич К.Г.** Закономерные и возможные механизмы действия сверхмалых доз биологически активных веществ // *Вестн. Моск. ун-та, сер. Химия*, 2001. — Т. 42. — № 2. — С. 131-134.

4. **Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В.** Отдаленные ответы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* на действие низких концентраций хлорофоса в период раннего индивидуального развития // *Вопр. ихтиологии*, 2005. — Т. 45. — № 4. — С. 548-553.

5. **Голованова И.Л., Таликина М.Г.** Влияние низких концентраций в период раннего индивидуального развития на пищеварительные карбогидразы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* // *Вопр. ихтиологии*. 2006. — Т. 46. — № 3. — С. 412-416.

6. **Bunton T.E., Wolfe M.J.** Reactivity of tissue-specific antigens in *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine-induced neoplasms and normal tissues from medaka (*Orizias latipes*) // *Toxicol. Pathol.*, 1996. — V. 24. — № 3. — P. 331-338.

7. **Amanuma K., Nakamura T., Aoki Y.** MNNG-induced mutation in the adult gill and embryos of rpsL transgenic zebrafish // *Mutat. Res.*, 2004. — V. 22. — № 1-2. — P. 151-161.

8. **Hendricks J.D., Shelton D.W., Loveland P.M. et al.** Carcinogenicity of dietary dimethylnitrosomorpholine, *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine, and dibromoethane in rainbow trout // *Toxicol. Pathol.*, 1995. — V. 23. — № 4. — P. 447-457.

9. **Orner G.A., Hendricks J.D., Arbogast D. et al.** Modulation of *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine multiorgan carcinogenesis by dehydroepiandrosterone in rainbow trout // *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1996. — V. 141. — № 2. — P. 548-554.

10. **Spitsbergen J.M., Tsai H.W., Reddy A. et al.** Neoplasia in zebrafish (*Danio rerio*) treated with *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine by three exposure rout at different developmental stages // *Toxicol. Pathol.*, 2000. — V. 28. — № 5. — P. 716-725.

11. *Методы биологии развития.* М.: Наука, 1974. — 619 с.

12. **Алов И.А.** Цитофизиология и патология митоза. — М.: Медицина, 1972. — 263 с.

13. **Ромейс Б.** Микроскопическая техника. — М.: Изд. иностр. лит-ры, 1953. — 718 с.

14. **Нейфах А.А., Тимофеева М.Я.** Молекулярная биология процессов развития. М.: Наука, 1977. — 312 с.

15. **Прокофьева-Бельговская А.А.** Радиационное поражение хромосом на ранних стадиях развития лосося // *Цитология*, 1961. — Т. 3. — № 4. — С. 437-446.

16. **Цой Р.М.** Действие нитрозоэтилмочевины и диметилсульфата на половые клетки радужной форели (*Salmo irideus*) и пеляди (*Coregonus peled*) // *Докл. АН СССР*, 1969. — Т. 189. — С. 411-414.

17. **Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Бочаров Е.Ф.** Цитогенетический гомеостаз и иммунитет. Новосибирск: Наука. Сибирск. отд., 1986. — 254 с.

Материал поступил в редакцию 10.04.07.

M.G.Talikina, Yu.G.Izyumov

IMPACT OF SUPER-LOW NITROSOGUANIDINE CONCENTRATIONS ON MITOTIC DIVISION OF GERM AND OF SPERMATOGONIC CELLS IN *RUTILUS RUTILUS*

I.D.Papanin Institute of Inland Waters Biology, Russian Academy of Sciences, Borok, Yaroslavl Region

The impact of super-low nitrosoguanidine concentrations on early stages of the *Rutilus rutilus* development presents a sensitive test for mutagenicity and ability of inducing a long negative effect. To asses correctly acute and prolonged effects produced by heterologous chemical compounds, it is worthwhile to use a number of concentrations at which exposure to minimal and maximum amounts of a substance tested must differ by a significant number of orders. The narrowing of the concentration range in experiment may lead to wrong conclusions because of alternating directions of effects signs.

Минздравсоцразвития России



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 86. Кобальт в тяжелых металлах и сульфат кобальта, арсенид галлия, фосфид индия и пентоксид ванадия*

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Cobalt in Hard Metals and Cobalt Sulfate, Gallium Arsenide, Indium Phosphide and Vanadium Pentoxide. Vol. 86. Lyon; France. — 2006.

Частицы металлического кобальта (с карбидом вольфрама и без него)

Металлический кобальт CAS № 7440-48-4

Кобальта сульфат гептагидрат CAS № 10026-24-1

Карбид вольфрама CAS № 12070-12-1

Кобальт широко распространен в окружающей среде, встречаясь в земной коре главным образом в форме сульфидов, оксидов и арсенидов. Металлический кобальт используется в производстве сплавов, устойчивых к коррозии и износу, применяемых в авиационных двигателях, производстве магнитов, высокопрочной стали и других сплавов широкого применения. Производственное воздействие кобальта имеет место преимущественно при его очистке и производстве сплавов. В тяжелой промышленности работники могут подвергаться его воздействию при производстве и использовании инструментов из тяжелых металлов, а также в ювелирном производстве при использовании алмазно-кобальтовых инструментов.

В нескольких работах, в которых оценивался онкологический риск у работников производства тяжелых металлов во Франции, показано повышение риска рака легкого у лиц, подвергающихся воздействию пыли тяжелых металлов. У экспериментальных животных опухоли при подожном введении возникали на месте введения.

Основными респираторными заболеваниями, вызываемыми вдыханием кобальтсодержащей металлической пыли, являются бронхиальная астма (любые смеси кобальта) и фиброзный альвеолит (металлический кобальт в смеси с кар-

бидом вольфрама или с микроалмазами).

На основе имеющихся данных эксперты МАИР отнесли металлический кобальт с карбидом вольфрама к веществам, вероятно канцерогенным для человека (группа 2A), металлический кобальт без карбида вольфрама, сульфат кобальта и другие растворимые соли кобальта (II) — к возможным канцерогенам для человека (группа 2B).

Арсенид галлия

CAS № 1303-00-0

Арсенид галлия все шире используется в микроэлектронике, где его воздействию подвергаются рабочие, занятые в производстве кристаллов, слитков и пластин из этого соединения, на их шлифовке, распиливании и других операциях. Данные о канцерогенности арсенида галлия для человека отсутствуют. В опытах на животных выявлена его слабая канцерогенность: у самок крыс при воздействии наиболее высоких концентраций возникали опухоли легких, у самцов крыс и мышей обоего пола эффект отсутствовал. Тем не менее эксперты МАИР отнесли арсенид галлия к доказанным канцерогенам для человека (группа 1), исходя из того, что это вещество может вызывать развитие опухолей двумя отдельными механизмами действия. Во-первых, в организме арсенид галлия может высвобождать небольшое количество мышьяка, который ведет себя как неорганический мышьяк в тех тканях, в которые он попадает. (Мышьяк и его неорганические соединения отнесены МАИР к группе 1.) В то же время именно галлий, входящий в состав молекулы, может быть ответственным за возникновение опухолей легких у самок крыс, т. к. известна устойчивость крыс к канцерогенному потенциалу мышьяка, который наиболее выражен в отношении человека. Идентичность токсико-химических реакций, наблюдавшихся в опытах с арсенидом галлия и оксидом галлия, добавляет обоснованности предположению об активности галлия и возможности канцерогенных свойств у других его соединений. Наблюдаемые эффекты могут быть также результатом

* Перепечатка из информационного бюллетеня «Первичная профилактика рака», вып. № 1 (5), 2007, с. 33.

комбинированного действия обеих составляющих арсенида галлия.

Фосфид индия

CAS № 22398-80-7

Индий фосфид используется в микроэлектронике. Его воздействию могут подвергаться лица, занятые в производстве высокоочищенных кристаллов, вырезке пластин и других форм, которые используются преимущественно в оптоэлектронных устройствах и интегрированных схемах, в производстве самого микроэлектронного оборудования.

При отсутствии данных о канцерогенности фосфида индия для человека существуют убедительные доказательства его канцерогенности для животных: чрезвычайно высокая частота опухолей легких у крыс и мышей, опухолей печени у мышей. Особенно существенно то, что эти эффекты наблюдались при чрезвычайно низких уровнях (0,03–0,3 мг/м³) и коротких сроках (22 нед.) воздействия. **Эксперты МАИР отнесли индий фосфид к вероятным канцерогенам для человека (группа 2A).**

Пентоксид ванадия

CAS № 1314-62-1

Ванадий широко распространен в земной коре, входит в состав многих минералов и горючих ископаемых. Пентоксид ванадия, основной коммерческий продукт ванадия, используется главным образом в производстве сплавов железа и алюминия, в качестве катализатора окисления в химической промышленности, а также во многих других отраслях промышленности. Воздействию пентоксида ванадия подвергаются рабочие, занятые в очистке и переработке богатых ванадием руд; при сжигании жидкого топлива, особенно бензина; при обращении с ванадиевыми катализаторами в химическом производстве, при очистке бойлеров и печей, для обогрева которых использовались нефтепродукты. Экспозиция к ванадию возможна также при загрязнении атмосферного воздуха продуктами сгорания горючих ископаемых, а также на значительно более низких уровнях при загрязнении продуктов питания и питьевой воды.

Данных о канцерогенности пятиоксида ванадия для человека нет. При ингаляции этого соединения у мышей обоего пола и у крыс самцов статистически значимо повышалась частота опухолей легких. **Эксперты МАИР отнесли пентоксид ванадия к веществам, возможно канцерогенным для человека (группа 2B).**

Л.Г.Соленова (ГУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН)

Том 87. Неорганические и органические соединения свинца*

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Inorganic and Organic Lead Compounds. Vol. 87. Lyon; France. — 2006.

Свинец, свинцовый порошок CAS № 7439-92-1

Ацетат свинца CAS № 301-04-2

Арсенат свинца CAS № 3687-31-8

Карбонат свинца CAS № 598-63-0

Хромат свинца CAS № 7758-97-6

Нафтенат свинца CAS № 61790-14-5

Нитрат свинца CAS № 10099-74-8

Диоксид свинца CAS № 1309-60-0

Монооксид свинца CAS № 1317-36-8

Триоксид свинца CAS № 1314-27-8

Фосфат свинца CAS № 7446-27-7

Субацетат свинца CAS № 1335-32-6

Сульфат свинца CAS № 7446-14-2

Сульфид свинца CAS № 1314-87-0

Тетраоксид свинца CAS № 1314-41-6

Тетраэтил свинца CAS № 78-00-2

Тетраметил свинца CAS № 75-74-1

В природных условиях свинец содержится в низких концентрациях в земной коре (преимущественно в виде сульфида), но широко распространен в окружающей среде в результате деятельности человека. Использование свинца и его соединений известно с доисторических времен. Он применялся для изготовления труб и столовой посуды еще во времена Римской империи. С ростом индустриализации росло и применение свинца, особенно широкое распространение оно получило в XX веке в связи с развитием автомобилестроения. Основное применение свинец нашел в производстве труб и радиаторов, красок и красителей, добавок к бензину, строительных материалов и батарей кислотных аккумуляторов. Все это привело к значительному загрязнению свинцом окружающей среды и все возрастающему воздействию его на человека.

Как результат антропогенной деятельности свинец может поступать в окружающую среду на любой стадии его получения, начиная с добычи до конечного использования, что ведет к круговороту его в природе и загрязнению зерна, почвы, продуктов питания, воздуха и пыли. Он устойчив в окружающей среде и основными путями его поступления в организм человека являются ингаляционный и пероральный. Глобальное распространение свинца в окружающей среде и, соответственно, воздействие на человека преимущественно обусловлено широким использованием бензина с добавками свинца. В

* Перепечатка из информационного бюллетеня «Первичная профилактика рака», вып. № 2 (6), 2007, с. 38.

некоторых географических районах, например, около свинцовых шахт и плавильных, концентрации свинца в окружающей среде особенно высоки. Использование красок на основе свинца в прошлом и настоящем может вести к значительному локальному воздействию свинцовой пыли.

Небольшие производства (ювелирное, керамическое, паяльное, стекольное), персональная деятельность (курение, домашний ремонт, использование косметики и пр.) могут создавать высокие уровни воздействия. Профессии, в которых существуют наиболее высокие уровни экспозиции, включают добычу, первичную и вторичную плавку свинца, производство кислотных свинцовых аккумуляторов, красителей, строительство и снос старых зданий.

Усилия по снижению концентраций свинца в окружающей среде (преимущественно путем уменьшения использования добавок свинца к бензину) привели в последние годы к существенному снижению его поступления в окружающую среду. Несмотря на устойчивость свинца в окружающей среде, интенсивность его воздействия на человека значительно снизилась в странах, где соответствующий контроль был введен 10–30 лет тому назад.

Результаты шести когортных исследований, проведенных в разных странах (США, Великобритании, Италии, Швеции) среди работников с высокими уровнями воздействия свинца, не дали однозначного ответа на вопрос о канцерогенности свинца для человека. Повышение риска возникновения рака легкого зарегистрировано лишь в шведском исследовании у рабочих, занятых выплавкой свинца (обнаружено двукратное статистически значимое увеличение частоты рака легкого). В этом случае, однако, не исключается влияние такого фактора, как экспозиция рабочих к мышьяку, являющемуся легочным канцерогеном. В четырех из пяти когорт наблюдалось повышение риска рака желудка на 30–50% в сравнении с окружающим населением. В одном когортном исследовании смертность от рака почки была статистически значимо выше ожидаемой. Смертность от опухолей головного мозга и нервной системы изучалась в 4 из шести когорт. Получены несовпадающие результаты. В финском исследовании рабочих, подвергавшихся воздействию сравнительно невысоких уровней свинца, обнаружен статистически значимый положительный тренд дозо-ответной связи между содержанием свинца в крови и риском развития глиом.

При обследовании населения, проведенном в США, обнаружена положительная дозо-ответная связь, близкая к статистически значимой, между уровнем свинца в крови и риском ра-

ка легкого. При этом, однако не может быть исключено влияние курения и профессионального воздействия других легочных канцерогенов, т. к. уровень свинца в крови был выше у лиц с более низким доходом.

В многочисленных опытах на животных убедительно показано канцерогенное действие различных водорастворимых и нерастворимых неорганических соединений свинца. У экспериментальных животных (крыс и мышей) они вызывают развитие опухолей почек и других органов. В одном из исследований введение соединения свинца крысам вызвало развитие опухолей головного мозга — глиом (у этих животных подобные опухоли спонтанно возникают очень редко).

На основании имеющихся данных **эксперты МАИР отнесли неорганические соединения свинца к вероятным канцерогенам для человека (Группа 2А).**

При отсутствии убедительных данных, свидетельствующих о канцерогенности для человека и экспериментальных животных, **органические соединения свинца не классифицированы относительно их канцерогенности для человека (Группа 3).**

Л.Г.Соленова (ГУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН)

Том 88. Формальдегид, 2-бутоксипропанол и 1-терт-бутоксипропан-2-ол*

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. Vol. 88. Lyon; France. — 2006.

Формальдегид
CAS № 50-00-0

Ежегодное производство формальдегида в мире составляет 21 млн тонн. Он находит широкое применение в химической промышленности, производстве различных синтетических волокон, пластиков и покрытий. Фенолформальдегидные смолы широко используются в мебельном, целлюлозно-бумажном и текстильном производстве. Водный раствор формальдегида (формалин) широко применяется как дезинфицирующее и антисептическое средство.

Профессиональная экспозиция к формальдегиду включает широкий круг профессий и производств. В прошлом наиболее высокие концентрации формальдегида (2,45–6 мг/м³) с длитель-

* Перепечатка из информационного бюллетеня «Первичная профилактика рака», вып. № 2 (6), 2007, с. 39.

ным сроком воздействия регистрировали при полировке мебели и деревянных полов, на завершающих стадиях производства текстиля, в производстве одежды, обработке меха, а также при некоторых работах в процессе производства картона и в литейных цехах. Воздействию высоких концентраций формальдегида ($3,7 \text{ мг/м}^3$ и выше) меньшей продолжительности подвергались бальзамировщики, патологоанатомы, работники, связанные с производством бумаги. Более низкие концентрации отмечаются при производстве стеклянных волокон, абразивов и резины. Широкий диапазон уровней экспозиции работников наблюдается на предприятиях по производству смол и пластиков. В последние десятилетия разработка смол, выделяющих меньше формальдегида, а также улучшение систем вентиляции привело к снижению уровней воздействия на многих промышленных предприятиях.

Как природное вещество формальдегид присутствует в окружающей среде и в большинстве живых организмов. Обычными непроизводственными источниками являются выбросы автомобилей, изделия из древесины, ковровые покрытия, лаки и краски, пищевые продукты и процессы их приготовления, табачный дым, а также использование формальдегида как антисептического средства. Фоновое содержание формальдегида в атмосферном воздухе, как правило, не превышает $0,001 \text{ мг/м}^3$, в городских условиях — менее $0,02 \text{ мг/м}^3$.

Обычное содержание формальдегида в воздухе помещений составляет $0,02\text{--}0,06 \text{ мг/м}^3$, хотя может значительно превышать этот уровень.

Со времени выхода последней монографии МАИР, посвященной формальдегиду (1995 г.), появились новые эпидемиологические данные о его канцерогенности для человека. В большом и наиболее информативном когортном исследовании, проведенном в США, у промышленных рабочих, подвергавшихся воздействию формальдегида, выявлено статистически значимое повышение смертности от назофарингеального рака по сравнению с общим населением страны. Статистически значимая дозо-ответная связь риска смерти от этих опухолей наблюдалась у рабочих с наиболее высокой (пиковой) и накопленной (кумулятивной) экспозицией. Аналогичные данные получены при изучении смертности бальзамировщиков в США и онкологической заболеваемости среди рабочих, экспонированных к формальдегиду в Дании. Эти и другие эпидемиологические исследования, в которых обнаружена положительная связь с производственным воздействием формальдегида на работающих, подтверждают роль формальдегида в развитии назофарингеального рака у человека.

Повышенная смертность от лейкозиев отмечается среди бальзамировщиков, работников похоронных бюро, патологоанатомов. Статистически значимая дозо-ответная связь выявлена между пиковой экспозицией к формальдегиду и смертностью от лейкозиев среди промышленных рабочих в США (наиболее выраженная связь обнаружена с риском смерти от миелоидного лейкоза).

В отношении опухолей других локализаций, развитие которых может быть связано с воздействием формальдегида, доказательства носят ограниченный характер (опухоль носа) или результаты, полученные в различных эпидемиологических исследованиях, не подтверждают причинной связи (опухоль полости рта, глотки, гортани, поджелудочной железы, легкого и головного мозга).

В опытах на животных были получены данные, подтверждающие канцерогенность формальдегида.

Принимая во внимание наличие убедительных доказательств канцерогенности формальдегида для человека и экспериментальных животных, **эксперты МАИР классифицировали формальдегид как канцероген для человека (Группа 1).**

2-Бутоксизтанол

CAS № 11-76-2

2-Бутоксизтанол является гликолевым эфиром, который широко используется в качестве растворителя поверхностных покрытий (лаков и красок), в чернилах для печати, средствах для очистки и как промежуточный продукт в химической промышленности. Профессиональное воздействие возможно при промышленном производстве и использовании этого соединения. Экспозиция населения к нему возможна путем кожного контакта и ингаляции при использовании потребительских товаров, главным образом чистящих средств.

В исследовании случай—контроль не было обнаружено повышения риска возникновения острой миелоидной лейкозиев и миелодисплазии, связанных с воздействием группы гликолевых эфиров, включавших 2-бутоксизтанол.

При ингаляционном введении 2-бутоксизтанола мышам у самцов наблюдалось дозозависимое повышение частоты гемангиосарком печени, у самок — папиллом преджелудка. У самок крыс наблюдался положительный тренд частоты доброкачественных опухолей надпочечников, у самцов повышения числа опухолей не отмечено.

Имеющиеся доказательства канцерогенности 2-бутоксизтанола для человека признаны неадекватными, а для животных — ограниченными. Вследствие этого **эксперты МАИР отнесли 2-бу-**

токсиэтанол к группе веществ, не классифицируемых относительно их канцерогенности для человека (Группа 3).

1-терт-бутоксипропан-2-ол

1-терт-бутоксипропан-2-ол — гликолевый эфир, использование которого растет начиная с 1980-х годов. Он применяется как растворитель в чистящих средствах, чернилах, адгезивных средствах и косметических продуктах. Данные об уровнях его воздействия на профессиональные группы и население, а также эпидемиологических данных о канцерогенности для человека нет.

При ингаляционном введении 1-терт-бутоксипропан-2-ола экспериментальным животным у мышей обоего пола наблюдалось дозоза-

висимое повышение частоты доброкачественных и злокачественных опухолей печени. У самцов крыс наблюдалось статистически незначимое повышение частоты доброкачественных опухолей почечных канальцев и печени, у самок не обнаружено нарастания частоты опухолей с увеличением дозы препарата.

Имеющиеся доказательства канцерогенности 1-терт-бутоксипропан-2-ола для человека признаны неадекватными, а для животных — ограниченными. Вследствие этого эксперты МАИР отнесли 1-терт-бутоксипропан-2-ол к группе веществ, не классифицируемых относительно их канцерогенности для человека (Группа 3).

Л.Г.Соленова (ГУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН)

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 547.532

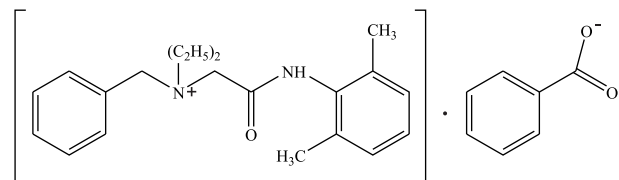
Н.Г.Иванов¹, М.В.Бидевкина¹, Б.А.Курляндский²,
Е.Б.Гугля¹, Н.И.Шейна¹, Э.Г.Скрябина¹

¹ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет» Росздрова

²ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, Москва

N-[2-[(2,6-ДИМЕТИЛФЕНИЛ)АМИНО]-2-ОКСОЭТИЛ]-N,N-ДИЭТИЛБЕНЗОЛ-МЕТАНАМИНИЙБЕНЗОАТ

(Битрекс, бензидиэтил((2,6-ксилилкарбомил)метил)аммоний бензоат, денатоний бензоат)



CAS №: 3734-33-6. C₂₈H₃₄N₂O₂. М.м. 446,9.

Порошок белого цвета со специфическим запахом. Обладает чрезвычайно сильным горьким вкусом. T_{пл.} 163–176°C. Плотность ~ 1,0 г/см³. рН 6,5–7,5. Растворимость в воде: при 20°C 45000 мг/л. Реакционная способность: окисляется, гидролизуется, галогенируется.

Используется как денатурирующая добавка в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности.

DL₅₀ (в/ж, мг/кг) для мышей самок составляет 560±55 мг/кг; для крыс самцов — 840±95 (3 класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76). Клиническая картина отравления характе-

ризовалась резким возбуждением, сменяющимся угнетением, сонливостью, тремором, нарушением координации движения, учащенным дыханием. Гибель подопытных животных наблюдали в течение первых двух суток после введения вещества.

Битрекс оказывает умеренно выраженное раздражающее действие на слизистую оболочку глаз, не раздражает кожу, не обладает кожно-резорбтивным действием, слабо кумулирует в организме при повторном введении в желудок — C_{сум} составил 4,8 (метод Lim et al., мыши).

Полученные в экспериментах данные о токсичности и характере действия битрекса согласуются с данными литературы. Так, DL₅₀ при внутрижелудочном введении составила для крыс 584–841 мг/кг, для кроликов — 508 мг/кг. DL₅₀ при нанесении на кожу кроликов > 2000 мг/кг. CL₅₀ аэрозоля битрекса для крыс при экспозиции 4 ч составила 200 мг/м³. Выявлено раздражающее действие битрекса на слизистые оболочки глаз. Кумулятивная активность при повторном введении в желудок выражена слабо. Наиболее поражаемые органы и системы: центральная нервная и дыхательная системы, желудочно-кишечный тракт, печень, почки, морфологический состав периферической крови.

Для определения Lim_{ac} аэрозоля битрекса были испытаны концентрации 8,7±2,39 и 1,8±0,16 мг/м³. Размер 60% частиц аэрозоля битрекса не превышал 2μ.

У крыс оценивали функцию нервной системы с помощью регистрации суммационно-порогового показателя и комплекса методов оцен-

Шкала оценки горького вкуса

| 4 балла | 3 балла | 2 балла | 1 балл |
|--|---|---|--|
| Непереносимый горький вкус. Возникает в течение 1–10 сек. после начала ингаляции | Сильный горький вкус. Возникает в течение 10–30 сек. после начала ингаляции | Умеренный горький вкус. Возникает в течение 31–60 сек. после начала ингаляции | Слабый горький вкус. Возникает после окончания ингаляции |

ки поведенческих реакций, которые наиболее часто используются для тестирования химических продуктов.

Функцию дыхательной системы изучали с помощью регистрации частоты дыхания и клеточной реакции легких и верхних дыхательных путей. Функциональную активность нейтрофилов и макрофагов в лаваже определяли с помощью НСТ-теста, индуцированного пирогеналом.

Для оценки функции печени в сыворотке крови крыс измеряли активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы и холинэстеразы. Кроме того, в сыворотке крови определяли содержание общего белка, альбумина, глюкозы, холестерина, общего билирубина и триглицеридов.

Функцию почек оценивали по диурезу, количеству общего белка и хлоридов в ней. Определяли содержание мочевины в моче и сыворотке крови уреазным методом. На основании этих данных рассчитывали стандартный коэффициент очищения мочевины (СКОМ), который служит мерой функциональной активности почек.

Аэрозоль битрекса в концентрации $8,7 \pm 2,34$ мг/м³ оказывал неблагоприятное действие на подопытных животных, вызывая изменения функционального состояния нервной системы и почек.

При исследовании функционального состояния нервной системы зарегистрировано повышение горизонтальной и вертикальной подвижности в тесте «открытое поле» и увеличение латентного периода первого выглядывания в тесте «ТКСО».

Изменения функции почек характеризовались увеличением содержания хлоридов в моче, уменьшением диуреза и как, следствие этого, имело место снижение СКОМ. Указанные отклонения свидетельствуют о преимущественном изменении фильтрационной способности почек.

В сыворотке крови зарегистрировано повышение активности АсАТ. Активность других исследованных ферментов и биохимические показатели сыворотки крови опытных животных не отличались от контроля.

Исследование функции дыхания у опытных животных практически не выявило нарушений

по сравнению с контролем. Частота дыхания крыс не изменялась. При подсчете процентного содержания нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов выявлено увеличение макрофагов в бронхо-альвеолярном лаваже, что, по-видимому, свидетельствует о миграции макрофагов в ответ на ингаляцию аэрозоля препарата и может рассматриваться как адаптивная реакция организма. Общая концентрация клеточных элементов и количество нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов как в назальном, так и в бронхо-альвеолярном лаваже не изменялись. Отсутствие количественных изменений основных клеточных элементов сочеталось со стабильностью функциональной активности фагоцитарных клеток лаважа: нейтрофилов и макрофагов.

Концентрация аэрозоля битрекса $1,8 \pm 0,16$ мг/м³ не вызвала каких-либо изменений регистрируемых показателей.

На основании изложенного, Lim_{ac} аэрозоля битрекса установлен на уровне $8,7$ мг/м³ по изменению поведенческих реакций и функции почек.

Принимая во внимание, что битрекс обладает чрезвычайно сильным горьким вкусом необходимо учитывать его влияние на работающих. С этой целью была разработана шкала оценки горького вкуса в баллах (от 4 до 1) от непереносимого до слабого горького. Регистрировали также скорость возникновения горького вкуса (табл.).

Испытуемые (мужчины и женщины в возрасте 24–60 лет) в течение 1 мин вдыхали воздух, содержащий аэрозоль битрекса в концентрациях $1,4 \pm 0,2$, $0,35 \pm 0,08$ и $0,04 \pm 0,01$ мг/м³ и оценивали свои ощущения в баллах. Выраженность ощущения горького вкуса битрекса испытуемыми зависела от его концентрации во вдыхаемом воздухе.

Математический анализ позволил описать указанную зависимость в виде:

$$y = 1,38 \lg x + 3,52$$

где: y – ощущение горького вкуса битрекса, баллы,

x – концентрация битрекса, мг/м³,

$$R^2 = 0,94$$

В качестве допустимого ощущения горького вкуса битрекса работающими в контакте с этим веществом была принята оценка 1 балл – слабое ощущение горечи, которое сравнительно мед-

ленно развивается. Согласно проведенным расчетам оценка вкуса 1 балл соответствует концентрации битрекса в воздухе 0,015 мг/м³.

Среднегеометрическая величина ОБУВ_{р.з.}, рассчитанная по параметрам токсикометрии (DL₅₀, Lim_{ac}) составила 0,222 мг/м³. Однако вдыхание аэрозоля битрекса на указанном уровне привело бы к возникновению у работающих сильного горького вкуса.

Поэтому было рекомендовано учесть указанную особенность влияния битрекса на организм и установить гигиенический норматив на уровне, вызывающим слабый горький вкус (0,015 мг/м³). ОБУВ аэрозоля битрекса в воздухе рабочей зоны утвержден в установленном порядке 0,01 мг/м³ (ГН 2.2.5.2240-07).

Метод определения в воздухе – ВЭЖХ. Диапазон измеряемых концентраций 0,005–0,1 мг/м³.

Материал поступил в редакцию 27.11.07.

УДК 546.268.1

М.В.Бидевкина¹, Н.Г.Иванов¹, Н.П.Сергеюк²

¹ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет» Росздрава
²ЗАО «Алгاما» НИЦ «ЭКОС», Москва

ИЗОТИОЦИАНОВОЙ КИСЛОТЫ АЛЛИЛОВЫЙ ЭФИР

(аллилизотиоцианат, 2-пропенилизотиоцианат, аллилогорчичное масло, эфирное горчичное масло)



№ CAS 57-06-7, М.м. 99,15. Жидкость с резким специфическим запахом, $d - 1,02356 \text{ г/см}^3$ при 15°C, $T_{\text{кип.}} 152^\circ\text{C}$. Растворимость: в воде – около 0,2%, в жирах – хорошо, в органических растворителях – растворимо во всех соотношениях в 95° спирте, хлороформе, эфире, бензоле, петролейном эфире. Содержание основного вещества составляет не менее 97%. Примеси: алкилоизоцианаты, алкенизотиоцианаты, изотиазолы, бензилоизоцианат, фениоизотиоцианат.

Вещество используется в качестве вкусоароматической добавки при производстве горчицы, майонеза, различных соусов и растительных масел, а также для переработки на предприятиях пищевой и фармацевтической промышленности.

DL₅₀ (в/ж, мг/кг) для белых крыс составляет 148 мг/кг, для белых мышей – 410 мг/кг (3 класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76). Клиническая картина отравления характеризовалась наступлением вялости, нарушением двигательной активности, расстройством желудочно-кишечного тракта, отказом от пищи. Гибель животных наступала на 2–3-и сутки.

Слабо кумулирует в организме ($C_{\text{сум}} = 5,2$, белые мыши, метод Lim et al.), обладает выраженным раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки глаз, не обладает кожно-резорбтивным действием. Выявлена умеренно выраженная сенсibiliзирующая активность изученного вещества путем внутрикожных и накожных аппликаций на кожу морских свинок.

Для определения Lim_{ac} и Lim_{ir} изотиоциановой кислоты аллилового эфира были испытаны концентрации 35,1±3,6, 9,0±1,2, 1,9±0,3 и 0,2±0,03 мг/м³.

У белых крыс регистрировали частоту дыхания, определяли клеточную реакцию легких и верхних дыхательных путей, оценивали функциональное состояние нервной системы (СПП, тесты «открытое поле» и «ТКСО»), печени (активность в сыворотке крови АлАТ и АсАТ) и почек (диурез, содержание в моче белка и хлоридов).

Изотиоциановой кислоты аллиловый эфир в концентрации на уровне 35,1 мг/м³ вызывал изменение функционального состояния дыхательной и нервной систем, печени и почек.

У крыс зарегистрировано урежение частоты дыхания и изменение клеточного состава в смывах из верхних дыхательных путей и легких. При исследовании поведения наблюдалось снижение двигательной активности крыс. Обнаружено повышение активности АлАТ и АсАТ в сыворотке крови, которое свидетельствует о развитии цитолитического процесса у крыс. Исследование функции почек выявило у подопытных крыс полиурию.

При воздействии изотиоциановой кислоты аллилового эфира в концентрации на уровне 9,0 мг/м³ у белых крыс также отмечалось урежение частоты дыхания. Зарегистрировано увеличение общего количества клеток, нейтрофилов и эпителиальных клеток в смывах из верхних дыхательных путей. Наблюдалось понижение двигательной активности крыс при исследовании поведенческих реакций. Изменение функционального состояния печени и почек не обнаружено.

Изотиоциановой кислоты аллиловый эфир в концентрации на уровне 1,9 мг/м³ оказывал раздражающее действие на верхние дыхательные пути. У крыс зарегистрировано урежение частоты дыхания и увеличение общего количества клеток и нейтрофилов в смывах из верхних дыхательных путей.

Концентрация на уровне 0,2 мг/м³ не вызывала у подопытных животных каких-либо изменений регистрируемых показателей.

Lim_{ac} (ингаляция, 4 ч, крысы-самки) установлен на уровне 9,0±1,2 мг/м³ по изменению поведенческих реакций крыс и функционального состояния дыхательной системы.

Lim_{ir} (ингаляция, 4 ч, крысы-самки) паров изотиоциановой кислоты аллилового эфира установлен на уровне 1,9 мг/м³.

Зона раздражающего действия вещества составила 4,7, следовательно изотиоциановой кислоты аллиловый эфир является специфическим раздражающим веществом. Lim_{ir} для человека составил 0,7 мг/м³.

$Lim_{ac\ sens}$ (ингаляция, 4 ч, морские свинки, положительные кожные пробы и РССЛ) установлен на уровне 7,6 мг/м³, что практически в 4 раза выше Lim_{ir} .

Таким образом, лимитирующим показателем вредного действия паров вещества при ингаляции является функциональное состояние дыхательной системы.

Принимая во внимание полученные в эксперименте результаты, величину ПДК изотиоциановой кислоты аллилового эфира вычисляли согласно методическим указаниям по нормированию в воздухе рабочей зоны веществ, обладающих специфическим раздражающим действием, с учетом величин Lim_{ac} , Lim_{ir} и Z_{ir} .

В качестве ПДК изотиоциановой кислоты аллилового эфира в воздухе рабочей зоны обобщена и утверждена величина 0,1 мг/м³, пары, класс опасности 1 (Дополнение № 3 к ГН 2.2.5.1313-03).

Метод определения в воздухе – ВЭЖХ. Диапазон измеряемых концентраций 0,05–1,0 мг/м³.

Материал поступил в редакцию 27.11.07.

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Анализы / Г.Р.Колоколов и др. – М.: Эксмо, 2007. – 767 с. – (Полный справочник). 4000 экз.

Бурбелло А.Т., Шабров А.В. **Современные лекарственные средства: Клинико-фармакологический справочник практ. врача.** – 4-е изд., перераб., доп. – М.: ОЛМА Медиа Групп, 2007. – 799 с. 5000 экз.

Василенко Ю.К. **Введение в патологическую и клиническую биохимию и лабораторную диагностику: Учеб. пособие.** – Пятигорск: Пятигор. ГФА, 2007. – 187 с. 1000 экз.

Врачебная экспертиза при отравлениях химическими веществами / Ю.И.Мусийчук и др. – СПб.: Фолиант, 2007. – 207 с. – (Токсикология для врачей). 500 экз.

Верткин А.Л. **Скорая медицинская помощь.** – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 365 с. 3000 экз.

Материалы X Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей. – М., 2007. Кн. I. – 1089 с. Кн. II. – 1347 с.

Токсикологическая химия. Ситуационные задачи и упражнения: Учеб. пособие / Под ред. Н.И.Калетиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 352 с. 2000 экз.

Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: Учеб. пособие / Под ред. Н.И.Калетиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1016 с. 2000 экз.

Химическая безопасность в Украине. Ежегодные чтения, посвященные памяти Евгения Игнатьевича Гончарука / Ю.И.Кундиев, И.М.Трахтенберг. – Киев, Издат. Дом «Авицена», 2007. – 71 с. 1000 экз.

World Health Organization (WHO)/IPCS project on the harmonization of approaches to the assessment of risk from exposure to chemicals: IPCS Framework for

analyzing the relevance of a cancer mode of action for humans (and three case studies). *Critical review in toxicology*. 36 (2006) <http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/cancer/en/index.html>

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC): *Monograph 37: Biomarkers in Children and Adults (published as a special section of Toxicology letters by Elsevier, 2007)* <http://www.ecetoc.org>

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC): *WR № 8: Workshop report on societal aspects of nanotechnology, 2007* <http://www.ecetoc.org>

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC): *WR № 9: Workshop report on the refinement of mutagenicity/genotoxicity testing, 2007* <http://www.ecetoc.org>

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC): *WR № 10: Workshop report on the biodegradation and persistence, 2007* <http://www.ecetoc.org>

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol 89: *Smokeless tobacco and some tobacco-specific N-nitrosamines* (in press) <http://www.monographs.iarc.fr>

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 90: *Human papillomaviruses, 2007* <http://www.monographs.iarc.fr>

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 91: *Combined estrogen-progestogen contraceptives and combined estrogen-progestogen menopausal therapy* (in press) <http://www.monographs.iarc.fr>

К.К.Сидоров, А.А.Виноградова

ИНФОРМАЦИЯ

ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора извещает о том, что в январе-феврале 2008 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 | Пирролидин-2-он C_4H_7NO | 616-45-5 | 2-Оксопирролидон; γ -бутиролакт-ам; 2-пирролидон; 4-аминомасляной кислоты лактам; 2-кетопирролидин; 2-пирол; азолидинон-2; 2-оксотетрагидропиррол; 2-оксопирролидин; α -пирролидон | 77.99.27.15.У. 3417.4.05 ВТ 000819 | 16.01.2008 |
| 2 | 4-[(6-Метокси-2-бензотиазолил)азо]-N-этил-N-гидроксиэтиламинобензол $C_{18}H_{20}N_4O_2S$ | | Краситель органический дисперсный 4-[(6-Метокси-2-бензотиазолил)азо]-N-этил-N-гидроксиэтиламин, моноазокраситель 2-[4-N-этил-N-(β -оксиэтил)аминофенилазо]-6-метоксибензтиазол | 77.99.27.15.У. 3140.3.05 ВТ 001514 | 12.02.2008 |
| 3 | 2,6-Бис(1,1-диметилэтил)-4-метилфенол $C_{15}H_{24}O$ | 128-37-0 | 4-Метил-2,6-ди-трет-бутилфенол; 2,6-ди-трет-бутил-п-крезол; 3,5-ди-трет-бутил-4-гидрокситолуол; гидрокситолуол бутилированный, Агидол; Алкофен БП; Топанол | 77.99.26.8.У. 9008.11.07 ВТ 002171 | 15.01.2008 |
| 4 | Аммоний тетрафторборат (1-) BH_4F_4N | 13826-83-0 | Аммоний боротetraфторид, аммоний бортетрафтористый, аммониевая соль тетрафторборной кислоты, аммоний тетрафторборат, аммоний борфтористый | 77.99.27.8.У. 6746.6.05 АТ 002193 | 21.02.2008 |
| 5 | Карбоксиметилловый эфир гуаровой смолы натриевая соль, деполимеризованный $[C_{17}H_{29}NaO_{10}]_n$ | 68442-93-3 | Гуаркарбоксиметил натриевая соль, деполимеризованная; входит в состав продукта RAGUM AD 26 E | 77.99.26.15.У. 1331.2.05 ВТ 002687 | 24.01.2008 |
| 6 | N,N-Диметил-1-деканамин $C_{12}H_{27}N$ | 1120-24-7 | Децилдиметиламин; входит в состав продукта XE 992 | 77.99.26.15.У. 1324.2.05 ВТ 002689 | 25.01.2008 |
| 7 | N,N-Диметил-1-деканамин N-оксид $C_{12}H_{27}NO$ | 2605-79-0 | Децилдиметиламин оксид; N-окись диметилдециламина; входит в состав продукта XE 992 | 77.99.26.15.У. 1326.2.05 ВТ 002690 | 25.01.2008 |
| 8 | диРодий трисульфат $Rh_2S_3O_{12}$ | 10489-46-0 | Родия соль серной кислоты (3:2), родий (III) сульфат | 77.99.27.8.У. 12257.10.05 АТ 002691 | 28.01.2008 |
| 9 | диОктадеcanoат магния $C_{36}H_{70}MgO_4$ | 557-04-0 | Стеариновой кислоты магниевая соль (1:2); дистеарат магния, стеарат магния | 77.99.26.15.У. 1327.2.05 ВТ 002692 | 27.01.2008 |
| 10 | N-Метил-N-фенилбензолметанамин $C_{14}H_{15}N$ | 614-30-2 | Фенилметилбензиламин; N-бензил-N-метиланилин; метилбензиланилин; N-метил-N-бензиланилин | 77.99.27.15.У. 3138.3.05 ВТ 002694 | 01.02.2008 |
| 11 | N-(2-Этилгексил)-N'-фенил-1,4-бензолдиамин $C_{20}H_{28}N_2$ | 82209-88-9 | N-2-этилгексил-N'-фенил-п-фенилендиамин; Новантокс 8 ПФДА; стабилизатор С-8 | 77.99.26.15.У. 2061.3.05 ВТ 002695 | 03.02.2008 |
| 12 | D-Маннитол $C_6H_{14}O_6$ | 69-65-8 | Маннит; 1,2,3,4,5,6-гексангексол; D-маннитол | 77.99.27.15.У. 1125.2.05 ВТ 002696 | 04.02.2008 |

| № п/п | Наименование вещества по IUPAC | № CAS | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ | Дата окончания срока госрегистрации |
|-------|--|-------------|--|---|-------------------------------------|
| 13 | Полимер этенилбензола с бута-1,2-диеном [[C ₈ H ₈] _m [C ₄ H ₆] _n] _x | 105179-69-9 | Сополимер стирола с 1,2-бутадиеном; каучук синтетический 1,2-бутадиенстирольный ДССК-2525, ДССК-2545, ДССК-2525м, ДССК-2545м | 77.99.27.15.У. <u>2564.3.05</u> ВТ 002697 | 14.02.2008 |
| 14 | Алкиловые C ₁₂₋₁₅ разветвленные эфиры жирных кислот таллового масла | 92045-08-4 | Входит в состав продукта PRINOL S95 | 77.99.27.8.У. <u>4658.4.05</u> ВТ 002698 | 25.02.2008 |
| 15 | Алкиловые C ₁₂₋₁₅ эфиры жирных кислот таллового масла сульфированные натриевые соли | 68424-50-0 | Входит в состав продукта PRINOL S95 | 77.99.27.8.У. <u>4659.4.05</u> АТ 002699 | 25.02.2008 |

Производство и применение перечисленных веществ возможно только после их перерегистрации.

ПЕРЕЧЕНЬ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, ПРОШЕДШИХ ГОСУДАРСТВЕННУЮ РЕГИСТРАЦИЮ (печатается с продолжением, сообщение № 79*)

| № п/п | Наименование вещества по IUPAC | № CAS | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ | Дата регистрации | Срок действия регистрации |
|-------|---|------------|---|---|------------------|---------------------------|
| 1 | Азот-алюминий-ванадий AlNv | | Лигатура ванадий-алюминий-азот, лигатура V-Al-N | 77.99.26.8.У. <u>9302.11.07</u> АТ 002969 | 22.11.07 | постоянно |
| 2 | α -втор-Алкил C ₁₁₋₁₅ - ω -гидроксиполи(окси-1,2-этандил) (C ₁₁₋₁₅ H ₂₄₋₃₂)O(C ₂ H ₄ O) _n | 68131-40-8 | Спирты C ₁₁₋₁₅ -втор-этоксилированные; этоксилаты вторичных спиртов C ₁₁₋₁₅ ; оксиэтилированные вторичные спирты C ₁₁₋₁₅ ; этоксилированные вторичные спирты C ₁₁₋₁₅ ; входит в состав продукта Acid Gelling Agent J429 | 77.99.26.8.У. <u>8888.11.07</u> ВТ 002963 | 07.11.07 | временно до 26.09.10 |
| 3 | Алюминий-ванадий-железо AlFeV | | Лигатура ванадий-алюминий-железо; лигатура Vn-Al-J | 77.99.26.8.У. <u>9308.11.07</u> АТ 002970 | 22.11.07 | постоянно |
| 4 | Алюминий-ванадий-железо-молибден-хром AlCrFeMoV | | Лигатура алюминий-молибден-ванадий-хром-железо; лигатура K-5-1 | 77.99.26.8.У. <u>8612.10.07</u> АТ 002962 | 25.10.07 | постоянно |
| 5 | Алюминий-ванадий-молибден-титан AlMoTiV | | Лигатура алюминий-молибден-ванадий-титан марки АМВТ | 77.99.26.8.У. <u>8611.10.07</u> АТ 002939 | 25.10.07 | постоянно |
| 6 | Алюминий-ванадий-молибден-титан-хром AlCrMoTiV | | Лигатура молибден-ванадий-хром-титан-алюминий; лигатура K-4-3 | 77.99.26.8.У. <u>8613.10.07</u> АТ 002940 | 25.10.07 | постоянно |
| 7 | Алюминий-ванадий-молибден-хром AlCrMoV | | Лигатура ванадий-хром-молибден-алюминий марки ВХМА | 77.99.26.8.У. <u>9303.11.07</u> АТ 002968 | 22.11.07 | постоянно |
| 8 | Алюминий-вольфрам-молибден-титан AlMoTiW | | Лигатура молибден-вольфрам-титан-алюминий марки МФТА | 77.99.26.8.У. <u>9306.11.07</u> АТ 002973 | 22.11.07 | временно до 15.10.10 |
| 9 | Алюминий-кремний-ниобий AlSiNb | | Лигатура алюминий-ниобий-кремний марки АНК | 77.99.26.8.У. <u>9305.11.07</u> АТ 002972 | 22.11.07 | временно до 15.10.10 |

* Начало в № 4 за 1994 г.

| № п/п | Наименование вещества по IUPAC | № CAS | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ | Дата регистра-ции | Срок дейст-вия регист-рации |
|-------|---|------------|--|--|-------------------|-----------------------------|
| 10 | Алюминий-молибден-ниобий-титан-углерод AlMoNbTiC | | Лигатура алюминий-молибден-ниобий-титан-углерод марки АМНТУ | 77.99.26.8.У. 9304.11.07 АТ 002971 | 22.11.07 | временно до 15.10.10 |
| 11 | 2,6-Бис(1,1-диметил-этил)-4-метилфенол C ₁₅ H ₂₄ O | 128-37-0 | 4-Метил-2,6-ди-трет-бутилфенол; 2,6-ди-трет-бутил-п-крезол; 3,5-ди-трет-бутил-4-гидрокситолуол; гидрокситолуол бутилированный; Агидол; Алкофен БП; Топанол; присадка антиокислительная 4-метил-2,6-дитретичный бутилфенол (Агидол-1) технический | 77.99.26.8.У. 9008.11.07 ВТ 002171 | 12.11.07 | временно до 15.01.11 |
| 12 | Гидразин гидрохлорид CН ₅ N ₂ | 2644-70-4 | Гидразин моногидрохлорид; гидразин хлорид; продукт LCA(*) J471A Iron Control Agent (вещество и его водные растворы) | 77.99.26.8.У. 8907.11.07 АТ 002959 | 07.11.07 | временно до 21.09.10 |
| 13 | 2,3-Дигидро-2-[[[4-метоксифенил)азо]метил-ен]-1,3,3-триметил-1Н-индол C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O | 40842-68-0 | 2-[[[4-Метоксифенил)диазенил] метилиден]-1,3,3-триметилиндолин; 1,3,3-триметил-2-(4'-метоксифенилазо)формилиндолин | 77.99.27.8.У. 9055.11.07 ВТ 002143 | 12.11.07 | временно до 20.11.10 |
| 14 | 2,3-Дигидрокси-[R-(R*,R*)]-бутандиовая кислота C ₄ H ₆ O ₆ | 87-69-4 | 2,3-Дигидроксибутандиовая кислота; (+)-(R,R)-винная кислота; d-α-β-дигидроксисукциновая кислота; (2R,3R)-(+)-винная кислота; (+)-L-винная кислота; 2,3-дигидроксисукциновая кислота; винная кислота; входит в состав продукта TFC* III Trifunctional Additive D121 | 77.99.26.8.У. 8884.11.07 ВТ 002966 | 07.11.07 | временно до 28.09.10 |
| 15 | 2,3-Дигидро-2-[[[2-метоксифенил)азо]метил-ен]-1,3,3-триметил-1Н-индол C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O | 77342-39-3 | 2-[[[2-метоксифенил)диазенил] метилиден]-1,3,3-триметилиндолин; 1,3,3-триметил-2-(2'-метоксифенилазо)формилиндолин | 77.99.27.8.У. 9056.11.07 ВТ 002142 | 12.11.07 | временно до 20.11.10 |
| 16 | Додецилсульфат натрия C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S | 151-21-3 | Додецилсульфат натрия; монододециловый эфир серной кислоты натрия; н-додецилсульфат натрия; лаурилсульфат натрия; Duponal | 77.99.26.8.У. 9307.11.07 ВТ 002974 | 22.11.07 | временно до 15.10.10 |
| 17 | Железо трихлорид Cl ₃ Fe | 7705-08-0 | Железо(III) хлорид; железо перхлорид; железо хлорное; железо хлорид; продукт LCA Fluid-Loss Additive J472 (вещество и его водные растворы) | 77.99.26.8.У. 8883.11.07 АТ 002964 | 07.11.07 | временно до 28.09.10 |
| 18 | Конденсат газовый ста-бильный демеркаптани-зированный | | Конденсат газовый стабильный демеркаптанизированный | 77.99.26.8.У. 8756.10.07 ВТ 002960 | 31.10.07 | постоянно |
| 19 | диЛютеций триоксид Lu ₂ O ₃ | 12032-20-1 | Лютеций(III) оксид; лютеций сесквиоксид; лютеция окись марок ЛюО-Д, ЛюО-Ж, ЛюО-И, ЛюО-Л, ЛюО-М | 77.99.26.8.У. 8901.11.07 АТ 002979 | 07.11.07 | временно до 18.10.10 |
| 20 | Магний-неодим MgNd | | Лигатура магний-неодим марки МН | 77.99.26.8.У. 8610.10.07 АТ 002961 | 25.10.07 | временно до 24.09.10 |

| № п/п | Наименование вещества по IUPAC | № CAS | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер гос-регистрации Номер РПОХБВ | Дата регистра-ции | Срок дейст-вия регист-рации |
|-------|---|-------------|---|--|-------------------|-----------------------------|
| 21 | Меркаптоацетат моноаммония $C_2H_7NO_2S$ | 5421-46-5 | Меркаптоуксусной кислоты аммониевая соль; тиогликолат аммония; тиогликолевой кислоты аммониевая соль; меркаптоэтановой кислоты аммониевая соль; меркаптоацетат аммония; продукт Reducing Agent LO63 (вещество и его водные растворы) | 77.99.26.8.У. 8887.11.07 ВТ 002965 | 07.11.07 | временно до 28.09.10 |
| 22 | диНатрий дихром (III) триоксид сульфат дигидрат $Cr_2Na_2O_7S \cdot 2H_2O$ | | диХром (III) триоксид динатрий сульфат дигидрат; динатрийсульфогидрат оксида хрома (III); хром сесквиоксид натриевой соли серной кислоты гидратированный; Хромотель XGS; дубитель хромовый сухой модифицированный; дубитель натрий-хром дигидрат сульфированный | 77.99.26.8.У. 8902.11.07 АТ 002653 | 07.11.07 | временно до 11.08.10 |
| 23 | α -(Нонилфенил)- ω -гидроксиполи(окси-1,2-этандил)фосфатов натриевые соли, разветвленный | 68954-84-7 | Нонилфенилполиэтиленгликолевые эфиры фосфорной кислоты натриевые соли; входит в состав продукта KOLORANT UNIVERSALNY K'99 | 77.99.26.8.У. 9009.11.07 ВТ 002977 | 08.11.07 | временно до 17.10.10 |
| 24 | Полимер 2-метил-2-[(1-оксопроп-2-енил)амино]-1-пропансульфоната натрия с 1-этилпирролид-2-оном [[C ₇ H ₁₂ NNaO ₄ S] _m · [C ₆ H ₉ NO] _n] _x | 53845-64-0 | Сополимер 2-акриламид-2-метилпропансульфоновой кислоты натриевой соли с N-винил-2-пирролидоном; реагент Driscal D | 77.99.26.8.У. 8900.11.07 ВТ 002976 | 07.11.07 | временно до 17.10.10 |
| 25 | Полимер N,N'''-1,6-гександиилбис[N'-циангуанидина] с 1,6-гександиамином гидрохлорид [[C ₁₀ H ₁₈ N ₈] _m [C ₆ H ₁₆ N ₂] _n] _x · ClH | 27083-27-8 | Поли(гексаметиленбиагуанид) гидрохлорид; Вантоцил (Vantocil) 100; Вантоцил TG и Вантоцил IB (20% водные растворы вещества) | 77.99.26.8.У. 8906.11.07 ВТ 002950 | 07.11.07 | временно до 12.09.10 |
| 26 | Продукт взаимодействия угля (коричневый) с натрий гидроксидом и титан дисульфатом | 515860-38-5 | Лигнитовая смесь (модифицированный полимер); входит в состав реагента Resinex | 77.99.26.8.У. 8899.11.07 ВТ 002958 | 07.11.07 | постоянно |
| 27 | Фенилацетат $C_8H_8O_2$ | 122-79-2 | Фениловый эфир уксусной кислоты; ацетилфенол; О-ацетилфенол; фенилацетат; продукт Organic Secondary Crosslinker J524 | 77.99.26.8.У. 8880.11.07 ВТ 002957 | 07.11.07 | временно до 19.09.10 |
| 28 | 4,4'-[1,3-Фениленбис(азо)]бис-1,3-бензолдиамин $C_{18}H_{18}N_8$ | 1052-38-6 | 4,4'-(1,3-Фениленбис(азо))бис-(1,3-бензолдиамин); Сольвент коричневый 41; Solvent brown 41, С.1.21000:1 | 77.99.26.8.У. 9057.11.07 ВТ 002865 | 12.11.07 | временно до 20.12.09 |
| 29 | 3-Фенилпроп-2-еналь C_9H_8O | 104-55-2 | β -Фенилакриловый альдегид; β -фенилакролеин; бензилиден-ацетальдегид; циннамальдегид; 3-фенилпропеналь; коричный альдегид; входит в состав продуктов Corrosion Inhibitor A259 | 77.99.26.8.У. 8885.11.07 ВТ 002967 | 07.11.07 | временно до 28.09.10 |