Минздравсоцразвития России
Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Роспотребнадзора

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review

научно-практический журнал

5'2009

Издается с июля 1993 г. *Выходит 1 раз в 2 месяца*

СОДЕРЖАНИЕ

Жармухамедова Т.Ю., Хохлова О.Н., Гуськова Т.А., Ржевский Д.И., Мурашев А.Н. Обязанности руководителя исследования при проведении испытаний безопасности химических веществ, биотехнологических и нанотехнологических продуктов в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики 2

Власов В.Н. Корреляционные связи показателей сердечно-сосудистой системы как критерии химической опасности 5

Малов А.М., Сибиряков В.К., Семенов Е.В. Распределение ртути в некоторых органах и тканях крыс 9

Юрченко В.В., Ингель Ф.И., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А., Ревазова Ю.А. Оценка мутагенной активности акрепа на трех тканях млекопитающих 15

Шеина Н.И. Значение оценки клеточной защиты респираторного тракта при гигиеническом нормировании биотехнологических штаммов 19

Соседова Л.М., Голубев С.С., Титов Е.А. Патоморфологические аспекты воздействия винилхлорида на ткань головного мозга белых крыс в динамике посткон-тактного периода 23

Гусева С.И., Макарова М.Н., Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Авдеева О.И., Карачинская И.В., Дьячук Г.И. Применение метода DRF (dose range finding) для оценки общей токсичности лекарственного препарата на основе растительных экстрактов 26

Кузьмина В.В. Влияние тяжелых металлов (цинк, медь) на динамику активности протеиназ химуса кишечника рыб при экспозиции в воде 30

Съезды, конференции, совещания 34

Наши поздравления 37

Юбилейные даты

Евгений Алексеевич Лужников

(к 75-летию со дня рождения) 38

БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ 39

Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам 40

Новые гигиенические нормативы 41

Информация 45

Перечень химических и биологических веществ, прошедших государственную регистрацию (сообщение № 87) 46

CONTENTS

Zharmukhamedova T.Yu., Khokhlova O.N., Guskova T.A., Rzhevskiy D.I., Murashov A.N. Responsibilities of heads of investigations linked with safety testing of chemicals, biotechnological and nanotechnological products in accordance with the Good Laboratory Practice 2

Vlasov V.N. Correlation links between indicators of the cardio-vascular system as criteria of chemical hazard 5

Malov A.M., Sibiryakov V.K., Semyonov Ye.V. Distribution of mercury in some organs and tissues of rats 9

Yurchenko V.V., Ingel F.I., Krivtsova Ye.K., Yurtseva N.A., Revazova Yu.A. Assessment of mutagenic activity of ACREP with the use of three tissues of mammals 15

Sheina N.I. Significance of cellular protection assessment of respiratory tract in hygienic regulation of biotechnological strains 19

Sosedova L.M., Golubev S.S., Titov Ye.A. Pathomorphologic aspects of vinyl chloride impact on the brain tissue of white rats in a post-contact period 23

Guseva S.I., Makarova M.N., Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Avdeyeva O.I., Karachinskaya I.V., Dyachuk G.I. Use of DRF (Dose range finding) method to assess general toxicity of herbal extracts-based preparations 26

Kuzmina V.V. Influence of heavy metals (Zinc, Copper) on the activity dynamics of the chyme proteinases in the fish intestine at exposure in water 30

Congresses, conferences, meetings 34

Our congratulations 37

Anniversaries

Evgenij Alekseevich Luzhnikov

(his 75th anniversaries) 38

BULLETIN OF THE RUSSIAN REGISTER OF POTENTIALLY HAZARDOUS CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES

News on toxity and hazard of chemical and biological substances 39

New publications on toxicology and related disciplines 40

New hygienic standards 41

Information 45

List of chemical and biological substances registered on the state level (list № 87) 46

УДК 615.2.074

Т.Ю. Жармухамедова, О.Н. Хохлова, Т.А. Гуськова, Д.И. Ржевский, А.Н. Мурашев

ОБЯЗАННОСТИ РУКОВОДИТЕЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИСПЫТАНИЙ БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И НАНОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ В СООТВЕТСТВИИ С ПРАВИЛАМИ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ

Филиал учреждения Российской академии наук института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Пущино, Московская обл.

В соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики руководством исследовательской организации назначается руководитель исследования для проведения токсикологических испытаний. Руководителем исследования может быть научный сотрудник или иной специалист, имеющий необходимый уровень образования, квалификацию и опыт работы. Руководитель исследования несет персональную ответственность за выполнение испытания и итоговый отчет. Он осуществляет общий контроль над проведением исследования.

Ключевые слова: *токсикологические испытания, руководитель исследования, ответственный исполнитель, правила надлежащей лабораторной практики.*

В настоящее время количество совместных международных исследовательских проектов по изучению безопасности химических веществ, биотехнологических и нанотехнологических продуктов увеличивается. Выполнение таких проектов требует соблюдение международных стандартов, которые законодательно утверждены в большинстве экономически развитых стран и обязательны при проведении токсикологических исследований. Соблюдение правил надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice – GLP) при проведении токсикологических исследований служит гарантией качества, достоверности и воспроизводимости полученных результатов.

В соответствии с правилами GLP руководством (менеджментом) исследовательской организации назначается руководитель исследования для проведения токсикологических испытаний. Это назначение оформляется документально [6, 8]. При необходимости менеджмент может заменить руководителя исследования, оформив соответствующую поправку к протоколу. Если испытание проводится в нескольких организациях, то в головной организации назначается руководитель исследования, а в организациях-соисполнителях – ответственные исполнители, которые находятся в тесном взаимодействии с руководителем исследования [2, 3, 8, 9].

Руководителем исследования или ответственным исполнителем может быть научный сотрудник или иной специалист, имеющий необходимый уровень образования, соответствующую квалификацию и опыт работы. Компетентность руководителя исследования или ответственного исполнителя подтверждается дипломами об образовании, сертификатами повышения квалификации и др. документами. Руководитель исследования несет персональную ответственность за выполнение испытания и итоговый отчет. Он осуществляет общий контроль над проведением исследования [2, 3, 9]. Ответственный исполнитель также, как и руководитель исследования, осуществляет контроль над проведением той части испытания, которая выполняется в организации-соисполнителе [2, 3, 8, 9]. Обязанности руководителя исследования оформлены документально и описаны в соответствующей стандартной операционной процедуре (СОП) [8].

Обязанности руководителя исследования при подготовке к проведению токсикологических исследований:

- уточняет с заказчиком и менеджментом детали дизайна исследования;
- составляет протокол исследования и обсуждает его с заказчиком;
- составляет и подает на рассмотрение в комиссию по биоэтике протокол-заявку, описывающую все планируемые манипуляции с животными;
- контролирует наличие и доступность соответствующих СОП;
- контролирует наличие материалов, необходимых для проведения исследования;

• подает ветеринарному врачу заявку на получение животных;

• обеспечивает персонал соответствующими бланками для записи первичных данных;

• контролирует готовность персонала к выполнению манипуляций, указанных в протоколе исследования, и наличие соответствующих записей об обучении в «Индивидуальной папке сотрудника».

Протокол испытания подписывается заказчиком и менеджментом, руководитель исследования визирует его своей датированной подписью. Дата подписи руководителя исследования протокола является официальной датой начала (инициации) испытания [1, 5]. Руководитель исследования до начала выполнения каких-либо манипуляций предоставляет копии протокола испытания и графика проведения манипуляций сотрудникам службы обеспечения качества. Накануне начала исследования проводится совещание с персоналом, на котором обсуждаются цели исследования, обязанности каждого исполнителя по данному исследованию, расписание манипуляций и процедур, правила техники безопасности и охраны труда. Персонал обеспечивается необходимым количеством копий протокола исследования, расписанием манипуляций, соответствующими бланками для осуществления регистрации первичных данных [8].

Обязанности руководителя исследования во время выполнения токсикологических исследований:

• контролировать выполнение правил GLP;

• контролировать аккуратность и полноту сбора данных, своевременно их рассматривать;

• обеспечивать выполнение всех процедур и манипуляций так, как они описаны в протоколе;

• утверждать поправки к протоколу (поправка к протоколу – это намеренное планируемое изменение утвержденного протокола после начала исследования);

• документировать все отклонения от протокола, СОП и GLP, принимать меры по их устранению, рассматривать влияние отклонений на ход исследования и интерпретацию данных;

• обеспечивать использование в исследовании только валидированных компьютеризированных систем (использование невалидированных систем документируется как отклонение от правил GLP);

• отвечать за интерпретацию и анализ полученных результатов и их изложение в отчете;

• подавать черновой отчет в службу обеспечения качества для аудита на соответствие правилам GLP, протоколу исследования и СОП, а также выборочному контролю индивидуальных данных (черновой отчет также предоставляется заказчику для ознакомления);

• ставить свою датированную подпись под итоговым отчетом по исследованию, подтверждая тем самым достоверность предоставляемых данных и соблюдение правил GLP.

Руководитель исследования документирует выполнение своих обязанностей в соответствующем бланке «Заметки руководителя исследования» – например, делает записи о посещении комнат для содержания животных, лабораторных помещений, в которых проводятся манипуляции. Кроме этого, любые другие записи, касающиеся испытания, руководитель исследования делает в бланке «Общие заметки по исследованию». В этом бланке могут документировать свои заметки о ходе испытания и другие специалисты, принимающие участие в данном исследовании [8]. Во время проведения испытания руководитель исследования контролирует полноту и аккуратность сбора результатов, своевременно рассматривает записи данных и наблюдений, распечатки с приборов и другую документацию, касающуюся исследования. Как подтверждение того, что он проверил результаты, на бланке для первичных данных ставится его датированная подпись.

Руководитель исследования обеспечивает надлежащее хранение первичных данных. Бумажная документация подшивается в отдельную папку, которая должна быть структурирована, чтобы облегчить нахождение первичных данных для их рассмотрения, обработки, а также для аудита персоналом службы обеспечения качества. Необходимо также обеспечить надлежащую сохранность электронных первичных данных: защиту от изменения и случайного удаления, создание резервных копий [4, 8].

Токсикологическое исследование считается завершенным после подписания руководителем исследования итогового отчета. Руководитель исследования персонально отвечает за техническую подготовку отчета, его соответствие протоколу и нормативным требованиям, полноту представления данных, их интерпретацию и обоснованность выводов [7, 8]. По окончании испытания руководитель исследования должен в кратчайшие сроки обеспечить передачу всех материалов (документов и образцов) согласно перечню, указанному в протоколе, в архив. Как правило, в архив сдаются следующие материалы:

• протокол исследования с поправками и отклонениями;

• образцы тестируемого и контрольного веществ, записи их приемки и учета, расчеты по приготовлению доз, результаты анализов концентрации, стабильности и гомогенности приготовленных доз;

• данные о тест-системе (сертификаты качества, предоставляемые поставщиком);

• записи о содержании животных (условия содержания и ухода, параметры окружающей среды);

• записи манипуляций с животными: формирование групп, взвешивание, введение веществ, наблюдение за здоровьем, потребление корма и воды, взятие проб, функциональные тесты и т.д.;

• образцы биологических проб (сыворотки, мочи) и данные их лабораторных анализов;

• записи о некропсии, данные патоморфологических и гистологических исследований;

• стекла гистологических препаратов, парафиновые блоки, коллекция органов и тканей;

• результаты аудитов службы обеспечения качества и заказчика;

• переписка с заказчиком и поставщиками;

• черновой и итоговый отчеты.

Таким образом, руководителю исследования отводится ведущая роль в проведении токсикологических исследований, выполняемых в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Соблюдение этих правил является гарантией качества, достоверности и воспроизводимости полученных экспериментальных данных.

Список литературы

1. ***Murashev A.N.*** *// OECD/Russia Federation workshop on «Biosecurity of microbial resources – complementing innovation». 20–21 September 2006. – Moscow. – P. 20.*

2. *OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997). OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring № 1. ENV/MC/CHEM (98)17. Paris, 1998.*

3. *U.S. FDA Good Laboratory Practice (GLP) Regulations for Non-clinical Laboratory Studies (21 CFR Part 58).*

4. ***Заргарова Т.А. и др.*** *// Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.*

5. ***Мурашев А.Н.*** *// Материалы Первой междунар. конф. «Биологические и медицинские технологии: от научных результатов – к инновационным разработкам». 3–4 марта 2005, Москва.*

6. ***Мурашев А.Н.*** *// III съезд фармакологов России. Санкт-Петербург, 23–27 сентября 2007. – Т. 2. – с. 1865.*

7. ***Мурашев А.Н. и др.*** *// Ведомости НЦ ЭСМП, 2007. – № 2. – С. 71-79.*

8. ***Мурашев А.Н. и др.*** *// Методическое пособие. – М.: Издательство типография РДПО при Институте развития дополнительного профессионального образования, 2008. – 89 с.*

9. *Правила лабораторной практики в Российской Федерации. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 № 267.*

Материал поступил в редакцию 28.01.09.

T.Yu. Zharmukhamedova, O.N. Khokhlova, T.A. Guskova, D.I. Rzhevskiy, A.N. Murashov

RESPONSIBILITIES OF HEADS OF INVESTIGATIONS LINKED WITH SAFETY TESTING OF CHEMICALS, BIOTECHNOLOGICAL AND NANOTECHNOLOGICAL PRODUCTS IN ACCORDANCE WITH THE GOOD LABORATORY PRACTICE

Branch of M.M. Shemyakin and Yu.A.Ovchinnikov Institute of Biorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, town Pushchino, Moscow Region

In accordance with Good Laboratory Practice the management of a research organization nominates the head of conducting toxicological testing. The expert nominated can be a research worker or another specialist having an adequate education, necessary qualifications and experience. The head of testing takes a personal responsibility for carrying out the testing and compilation of the conclusive report. This person performs the control over the testing.

УДК 612.13/17.08:614.878

В.Н. Власов*

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ КАК КРИТЕРИИ ХИМИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ

Тольяттинский государственный университет

Исследованы корреляционные связи физиологических, биохимических и морфометрических показателей сердечно-сосудистой системы лабораторных животных (крыс) различного возраста. Выявлена взаимосвязь исследованных показателей у животных различного возраста. Результаты создают основу ускоренного нормирования химических веществ, обладающих геронтогенным действием на сердечно-сосудистую систему.

Ключевые слова: *ускоренное старение, опасность химических веществ, экспериментальные животные.*

Введение. Известно, что взаимосвязь отдельных физиологических функций организма, биохимических цепей основных видов обмена веществ и общих защитных механизмов является основой формирования гомеостаза. Независимо от характера действия любого химического соединения указанные процессы будут вовлекаться в патогенез интоксикаций. Химические соединения способствуют развитию общих патологических процессов, лежащих в основе заболеваний сердца и сосудов. Поэтому особенно актуальна разработка критериев опасности развития отдаленных последствий химических воздействий на сердце и сосуды в эксперименте на животных, что позволяет своевременно внедрить в практику здравоохранения гигиенические регламенты [7, 8, 11].

В связи с отсутствием у большинства лабораторных животных нозологических форм сердечно-сосудистой патологии (характерной для человека) увеличивается теоретическая и практическая значимость разработки экспериментальных моделей. Анализ признаков естественного геронтогенеза целостного организма и отдельных его систем (в том числе сердечно-сосудистой системы) под действием химических соединений открывает реальные перспективы разработки таких моделей, что обусловлено близостью многих физиологических, биохимических и морфологических признаков состояния сердечно-сосудистой системы в динамике естественного старения и атерогенеза. Ускоренное старение сердечно-сосудистой системы при действии химического фактора подтверждено при нормировании большого количества химических соединений [4, 8, 9].

Ранее [3] нами были разработаны критерии биологического возраста экспериментальных животных для целей гигиенического нормирования. В развитии и совершенствовании этих критериев были изучены корреляционные связи между зависимыми от возраста показателями старения животных, которые могут явиться новым видом биомаркера старения. Регистрация этих дополнительных биомаркеров не требует материальных затрат, но позволяет получить новую информацию о характере взаимоотношений изучаемых параметров.

Цель исследования – дальнейшее совершенствование и поиск новых критериально значимых биомаркеров естественного старения сердечно-сосудистой системы у лабораторных животных.

Материалы и методы исследования. Для решения поставленных задач использовано 420 белых крыс, приобретенных в питомнике РАМН и содержащихся в виварии НИИ гигиены и экологии Самарского государственного медицинского университета на стандартном пищевом рационе. Начиная с 4-х месячного возраста (до момента их естественной гибели) у животных обоего пола изучали показатели, связанные с деятельностью сердечно-сосудистой системы. Анализ данных литературы [4, 7, 8, 11], проведённые нами ранее исследования [2, 3] позволили обосновать и использовать следующие зависимые от возраста показатели. Физиологические показатели: частота сердечных сокращений (ЧСС) и комплекс QRST на ЭКГ. Биохимические показатели: активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы ($Г_6ФД$) [6] и фруктозодифосфатальдолазы (ФДФ) [5] в цитоплазматической фракции миокарда; содержание гексозаминов (ГА) в миокарде [12] и оксипролина (ОП) [13] в стенке аорты и в миокарде. Морфологические показатели включали в себя измерение на поперечном срезе аорты толщины мышечного слоя и эластических волокон. Используя тестовую окулярную

* фрагмент диссертационной работы

сетку [1], в препаратах миокарда определяли соотношение соединительная ткань/кардиомиоциты (СТ/КМ).

Статистическая группа состояла из 30 особей. Время наблюдения составило 28 месяцев естественного старения. Забой животных проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных Минздравом СССР. Результаты обрабатывали методами математической статистики, использовали регрессионно-корреляционный анализ пакета программам Excel Windows.

Результаты и обсуждение. Изучение характера связей (с помощью парного корреляционного анализа индивидуальных вариант) и их изменения в процессе естественного старения животных показало как исчезновение этих связей, так и их сохранение. Корреляционные связи показателей при естественном старении крыс представлены в табл.

У крыс обоего пола до 16-ти месяцев между ЧСС и активностью $Г_6$ФД в миокарде имелась сильной степени линейная связь. Аналогичный характер связи до одного года имел место между ЧСС и активностью ФДФ в миокарде животных и между ЧСС и комплексом QRST на ЭКГ. До 8-ми месяцев имела место сильной степени линейная связь между комплексом QRST на ЭКГ и активностью $Г_6$ФД в миокарде. Несомненно, сильная корреляционная связь «ЧСС/$Г_6$ФД», «ЧСС/ФДФ» у животных обоего пола до 12–16-ти месяцев свидетельствует о значимости механизмов, их поддерживающих. По-видимому, утрату этих корреляционных связей у животных обоего пола в «старших возрастных группах» можно расценивать как биомаркер старения.

Учитывая, что взаимосвязь ЧСС и активности $Г_6$ФД и ФДФ в миокарде сохраняется более длительный промежуток времени, то, скорее всего ЧСС (показатель, характеризующий деятельность сердца) лучше, чем комплекс QRST на ЭКГ (показатель, характеризующий желудочковую часть систолы) отражает взаимодействие физиологических и биохимических процессов происходящих в миокарде естественно стареющих животных в «начальном периоде» их жизни.

Анализ корреляционных связей биохимических показателей (табл.) показал, что во всех возрастных группах у животных обоего пола наблюдается положительная корреляционная связь между ОП миокарда и ГА миокарда, между ОП миокарда и соотношением СТ/КМ левого желудочка сердца и между ГА миокарда и соотношение СТ/КМ левого желудочка сердца. Высокая устойчивая корреляционная связь «ОП/ГА» миокарда подтверждает рекомендации некоторых авторов [10] рассчитывать соотношение ГА/ОП для определения биологического возраста животных. Сильной степени линейная корреляционная связь между ОП миокарда и соотношением СТ/КМ левого желудочка сердца у животных обоего пола, несомненно, свидетельствует о «взаимозаменяемости» морфометрического метода определения объёмных фракций соединительной ткани в миокарде левого желудочка сердца и биохимического метода определения ОП в нём. Замена более трудоёмкого морфометрического метода определения соотношения СТ/КМ менее трудоёмким биохимическим методом определения ОП в миокарде позволит экономить материальные и трудовые ресурсы при гигиеническом нормировании химических веществ обладающих способностью влиять на процессы естественного старения.

Наличие прямой корреляционной связи между ОП миокарда и ОП аорты у животных обоего пола и одинакового возраста (4, 8, 12, 24 и 28 месяцев) свидетельствует о взаимосвязи процессов увеличения количества соединительнотканных белков (по ОП) в миокарде и аорте у естественно стареющих животных. Это также может свидетельствовать и о некоторой «взаимозаменяемости» этих биохимических методов.

Анализ корреляционных связей морфологических показателей (табл. 1) показал что, у крыс обоего пола на всех сроках наблюдения величина эластических волокон аорты корреляционно связана с ОП аорты. До двадцати месяцев толщина мышечных волокон аорты корреляционно связана с ОП аорты. До восьми месяцев между величиной мышечных и эластических волокон имеется корреляционная зависимость. Высокая корреляционная связь между величиной эластических волокон аорты и ОП аорты на всех сроках наблюдения подтверждает её значимость для «естественно стареющих» животных. Так же как и у крыс-самцов у крыс-самок до 8-ми месяцев имело место сильной степени линейная связь между величинами мышечных и эластических волокон аорты, причём она сохранилась не только в 16 месяцев, но и в 20 месяцев.

Устойчивая корреляционная связь между ОП аорты и толщиной мышечных и эластических волокон аорты подчеркивает тесную взаимосвязь прироста соединительнотканных белков в стенке аорты с мышечными и, особенно, с эластическими волокнами.

Таблица

Динамика изменений коэффициентов корреляции показателей сердечно-сосудистой системы у крыс (n = 30)

Показатель	Пол	Возраст, месяцы						
		4	8	12	16	20	24	28
«ЧСС/$Г_6$ФД» миокарда	самцы	0,63**	0,58**	0,7**	0,59**	0,2	0,15	0,24
	самки	0,51**	0,47*	0,65**	0,54**	0,09	0,22	0,09
«ЧСС/ФДФ» миокарда	самцы	0,51**	0,54**	0,52**	0,1	0,19	0,24	0,04
	самки	0,65**	0,54*	0,47**	0,04	0,06	0,12	0,02
«ЧСС/комплекс QRST на ЭКГ»	самцы	0,69**	0,61**	0,56**	0,12	0,31	0,21	0,16
	самки	0,52**	0,59**	0,64**	0,3	0,21	0,11	0,08
«Комплекс QRST на ЭКГ/$Г_6$ФД» миокарда	самцы	0,7**	0,56**	0,13	0,25	0,05	0,21	0,1
	самки	0,56**	0,73**	0,33	0,2	0,1	0,25	0,22
«ОП/ГА» миокарда	самцы	0,43*	0,5**	0,6**	0,66**	0,54**	0,57**	0,6**
	самки	0,54**	0,48**	0,54**	0,48**	0,69**	0,62**	0,53**
«ОП миокарда/ОП аорты»	самцы	0,39*	0,36*	0,68**	0,2	0,1	0,47**	0,5**
	самки	0,47**	0,41*	0,49**	0,1	0,21	0,72**	0,39*
«ОП миокарда/соотношение СТ/КМ»	самцы	0,49**	0,51**	0,44*	0,52**	0,45*	0,61**	0,48**
	самки	0,51**	0,5**	0,55**	0,52**	0,57**	0,49**	0,57**
«ГА миокарда/соотношение СТ/КМ»	самцы	0,42*	0,54**	0,5**	0,39*	0,52**	0,5**	0,47**
	самки	0,47**	0,66**	0,54**	0,58**	0,62**	0,55**	0,6**
«ОП аорты/мышечные волокна аорты»	самцы	0,5**	0,53**	0,57**	0,47**	0,52**	0,14	0,09
	самки	0,59**	0,6**	0,49**	0,46**	0,61**	0,12	0,1
«ОП аорты/эластические волокна аорты»	самцы	0,67**	0,57**	0,53**	0,54**	0,55**	0,56**	0,7**
	самки	0,69**	0,59**	0,65*	0,6**	0,48**	0,49**	0,52**
«Мышечные волокна/эластические волокна»	самцы	0,62**	0,55**	0,23	0,7**	0,3	0,29	0,3
	самки	0,78**	0,66**	0,22	0,4*	0,69*	0,23	0,34

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Выявленная корреляционная связь между морфологическими (величина эластических и мышечных волокон аорты) и биохимическими (ОП аорты) показателями, характеризующими аорту у животных обоего пола, подтверждает значимость механизмов, поддерживающих их равновесие и постоянство при естественном старении животных. Получены свидетельства о возможной «взаимозаменяемости» применённых морфометрических (в первую очередь величины эластических волокон аорты) и биохимических (ОП аорты) методов, характеризующих аорту экспериментальных животных.

Ранее [4] на крысах-самцах популяции Вистар показана высокая прогностическая значимость показателей, характеризующих скорость геронтогенеза сердечно-сосудистой системы, для ОП аорты и соотношения СТ/КМ левого желудочка сердца, что подтвердилось и в наших исследованиях. Вместе с тем, нами установлено, что морфологический показатель соотношение СТ/КМ левого желудочка сердца у животных обоего пола вполне можно заменить менее трудоемким методом определения ОП миокарда тем более, что нами была установлена его высокая информативность и значимость [3].

Таким образом, изменения характера корреляционных связей между биологически связанными показателями («ЧСС/Г6ФД», «ЧСС/ФДФ») могут использоваться как биомаркеры старения для крыс. Устойчивые корреляционные связи «ОП/ГА» миокарда, «ОП миокарда/соотношение СТ/КМ», «ГА миокарда/соотношение СТ/КМ» и «ОП аорты/эластические волокна аорты» у животных обоего пола во всех возрастных периодах подчеркивают значимость и информативность при гигиеническом нормировании химических веществ влияющих на естественные процессы геронтогенеза следующих показателей: ОП миокарда, ГА миокарда, ОП аорты, соотношение СТ/КМ левого желудочка сердца и толщина эластических волокон аорты.

Заключение. Старение – необратимый процесс, поэтому устойчивые критерии геронтогенеза могут служить основой системы прогнозирования безопасных уровней воздействия химических соединений. Наибольшую прогностическую значимость в комплексе показателей, характеризующих геронтогенез сердечно-сосудистой системы, имеют показатели состава соединительной ткани миокарда (ОП и ГА миокарда), аорты (ОП аорты и толщина эластических

волокон) и морфометрии миокарда (соотношение СТ/КМ). Это позволяет использовать их в качестве надежных критериев гигиенического нормирования химических веществ в объектах окружающей среды. Вместе с тем, на основании наших исследований можно рекомендовать заменить морфометрический метод определения соотношения СТ/КМ на биохимическое определение ОП миокарда, а морфометрическое определение толщины эластических волокон аорты на биохимическое определение ОП аорты. Эти замены основываются на высокой положительной корреляционной связи между ОП миокарда и соотношением СТ/КМ, толщиной эластических волокон аорты и ОП аорты, что и позволяет предложить такую замену.

Учитывая полученные результаты, считаем целесообразным длительность восстановительного периода уменьшить с 9–12 месяцев, как того требуют действующие методические рекомендации [7], до одного месяца, то есть до периода восстановления, рекомендованного «Методическими указаниями к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

Полученные результаты создают основу ускоренного нормирования химических веществ, обладающих геронтогенным действием на сердечно-сосудистую систему.

Список литературы

1. ***Автандилов Г.Г.*** *Введение в количественную патологическую морфологию. – М.: Медицина, 1980. – 240 с.*

2. ***Власов В.Н.*** *Изучение изолированного и сочетанного действия ксилола и общей вибрации на сердечно-сосудистую систему (экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. – М., 1989. – 24 с.*

3. ***Власов В.Н.*** *Показатели старения сердца и сосудов как критерии опасности химических веществ // Токсиколог. вестник, 2005. – № 5. – С. 27-31.*

4. ***Гродецкая Н.С.*** *Анализ значимости признаков старения сердца и сосудов при гигиеническом нормировании промышленных соединений (экспериментальное исследование опасности развития отдаленных эффектов на сердечно-сосудистую систему): Автореф. дис. ... д-ра. – М., 1989. – 49 с.*

5. ***Кулганек В., Клашка В.*** *Упрощенное определение альдолазной активности в сыворотке крови // Вопросы медицинской химии, 1961. – Т. 7. – № 4. – С. 434-436.*

6. *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Учебное пособие / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 272 с.*

7. *Методические рекомендации по оценке отдаленных последствий влияния химических соединений на сердечно-сосудистую систему в эксперименте с целью гигиенического нормирования // Проблемы промышленной токсикологии. – М.: СЭВ, 1982. – С. 52-58.*

8. ***Саноцкий И.В., Фоменко В.Н.*** *Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. – М.: Медицина, 1979. – 232 с.*

9. ***Саноцкий И.В., Гродецкая Н.С.*** *Ускоренное старение организма – интегральный итог химического стресса // Токсиколог. вестник, 1997. – № 6. – С. 8-12.*

10. ***Слуцкий Л.И.*** *Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – М.: Медицина, 1968. – 375 с.*

11. *Ускоренная оценка действия химических соединений на сердечно-сосудистую систему в эксперименте с целью гигиенического нормирования: Методические указания / МЗ СССР; Сост.: И.В. Саноцкий, Н.С. Гродецкая, И.М. Трахтенберг и др. – М., 1988. – 16 с.*

12. ***Gatt R., Berman E.*** *A rapid procedure for the estimation of amino sugars on a micro scale // Analyt. Biochem., 1966. – V. 15. – № 1. – P. 167-171.*

13. ***Stegemann H.*** *Mikrobestimmung von Hydroxyprolin mit Chloramin-T und p-Dimethylaminobenzaldehyd // Hoppe. – Seylers Z. Physiol. Chem., 1958. – Bd. 311. – S. 41–45.*

Переработанный экземпляр статьи поступил в редакцию 23.06.09.

V.N. Vlasov

CORRELATION LINKS BETWEEN INDICATORS OF THE CARDIO-VASCULAR SYSTEM AS CRITERIA OF CHEMICAL HAZARD

Tolyatti State University

Correlation links between physiological, biochemical and morphometric indicators of the cardio-vascular system in laboratory animals (rats) of different age were investigated. The relationship between these indicators in animals of different age was found out. The outcome of the investigation creates a basis for an accelerated regulation of chemicals producing a gerontogenic effect on the cardio-vascular system.

УДК 612.015.31:546.49

А.М. Малов, В.К. Сибиряков, Е.В. Семенов

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РТУТИ В НЕКОТОРЫХ ОРГАНАХ И ТКАНЯХ КРЫС

ФГУН Институт токсикологии ФМБА России, С.-Петербург

Изучено дозо-зависимое распределение ртути в некоторых органах и тканях крыс при затравке животных ацетатом и нитратом ртути. Картины распределения имеют как общие, так и отличительные черты, что может быть объяснено особенностями состава ткани и физико-химическими особенностями солей ртути. Коэффициенты распределения для ацетата выше, чем для нитрата ртути. Наибольшие концентрации ртути зарегистрированы в почках и печени.

Ключевые слова: *крысы, ацетат и нитрат ртути, распределение.*

Введение. В связи с глобализацией ртутного загрязнения [1, 2], обостряющейся ситуацией с ртутной контаминацией среды крупных городов [3], а также данными о токсическом действии малых доз ртути на организм [4, 5], хроническая интоксикация этим тяжелым металлом становится достаточно частой патологией. С последствиями хронического воздействия ртути и ее соединений на организм (меркуриализм) врачи-токсикологи сталкиваются достаточно часто, и это явление требует всестороннего изучения. Важным для понимания воздействия ртути в этих условиях, а в еще большей степени – для последующего лечения, является информация о накоплении ртути в организме, ее распределении по органам и тканям. В настоящее время терапевтические мероприятия при ртутной интоксикации основаны преимущественно на общих представлениях токсического действия тяжелых металлов на организм, ее содержания в крови и моче [6].

В обзорах, посвященных поступлению и распределению ртути в организме, имеются разрозненные данные о содержании ртути в тех или иных органах и тканях, но они приводятся без анализа дозо-временных параметров распределения определенного соединения ртути [7, 8, 9, 10] или работы выполнены на моделях далеких от млекопитающих, например, рыбах [11]. Как правило, во всех работах исследован один вид ртутного соединения. Сравнительных систематических данных о накоплении различных неорганических соединений ртути в зависимости от дозы найти не удалось.

Задачей настоящего исследования явилось моделирование хронического алиментарного поступления двух соединений ртути в организм крыс и исследование накопления этого металла в некоторых органах и тканях в зависимости от дозы.

Материалы и методы исследования. Биологический материал для анализа был получен в рамках выполнения НИР «Экспериментальное обоснование создания стандартного образца предприятия (СОП) состава ртути в крови» по плановому заданию Федерального медико-биологического агентства.

Белым беспородным крысам массой от 170 до 225 г в течение 30 суток перорально, с питьевой водой вводили растворы нитрата – $Hg(NO_3)_2$ или ацетата – $Hg(CH_3COO)_2$ ртути. Процесс затравки крыс и приготовления растворов описан в работе [12].

При работе с ацетатом ртути (АР) – эксперимент № 1, были использованы три суточные дозы – 0,06, 0,30 и 0,60 мг/кг (по ртути), а при работе с нитратом ртути (НР) – эксперимент № 2, применены четыре суточные дозы – 0,06, 0,30, 0,60 и 1,80 мг/кг (по ртути). Биологический материал от 3–7-ми животных для каждой дозовой группы проанализирован отдельно, полученные данные были подвергнуты статистической обработке [13].Определение ртути в тканях и органах крыс проводили методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии [14] на ртутном анализаторе «Юлия-2», соответствующие процедуры описаны в работе [12]. Пробоподготовка образцов тканей и органов крыс выполнена в соответствии с рекомендациями и указаниями для соответствующего вида материалов [15, 16].

Результаты и обсуждение. Эксперименты с АР и НР выполнены на крысах, полученных из питомника «Рапполово» в различное время. При содержании животных в питомнике мог быть использован корм с несколько отличающимся содержанием ртути в нем. Это обстоя-

тельство объясняет некоторые различия в данных содержания ртути в органах и тканях крыс контрольных групп животных (табл. 1), выраженных в абсолютных единицах, в частности, достаточно высокое содержание ртути в костной ткани в эксперименте № 1 (табл. 1). По этому показателю достоверно отличались кровь, костная ткань и головной мозг. Чтобы нивелировать эти отличия и иметь возможность сопоставлять результаты двух экспериментов, содержание ртути представлено в относительных единицах – в процентах от соответствующих контрольных значений. Опираясь на данные табл. 1, можно вычислить соответствующие абсолютные значения содержания ртути для экспериментальных животных.

Важным наблюдением (табл. 1) является тот факт, что единственным органом, избирательно накапливающим ртуть в естественных условиях содержания животных, являются почки, в них ртути в три – четыре раза больше чем в крови. Отношение содержания ртути в органе или ткани к таковому в крови (коэффициент распределения) является важной характеристикой процесса накопления. Если величина этого коэффициента больше 1, то можно говорить об избирательности процесса накопления ртути данным органом или тканью. При значении этого коэффициента меньше 1, по-видимому, речь может идти о механизме пассивного распределения ртути, наличии барьеров в этом процессе.

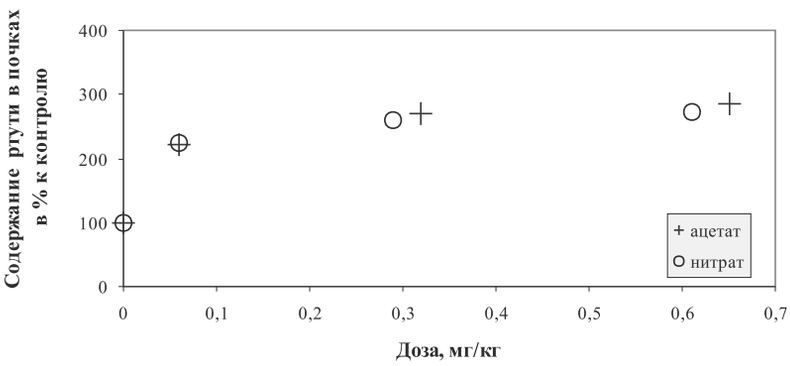


Рис. 1. Накопление ртути почками крысы при затравке АР и НР в различных дозах

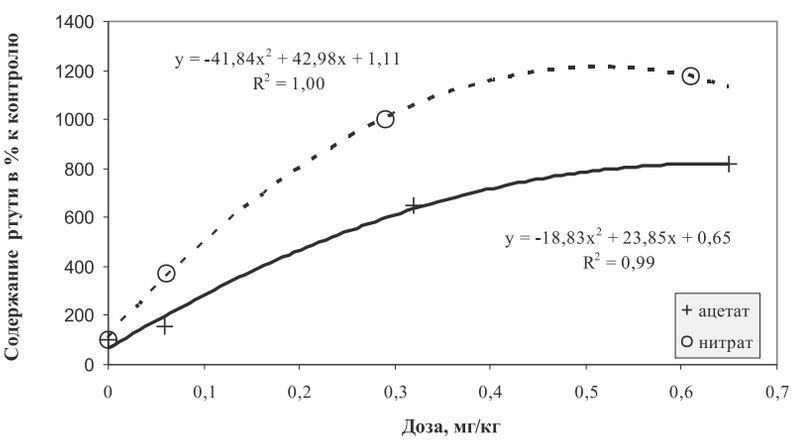


Рис. 2. Накопление ртути печенью крыс при затравке АР и НР в различных дозах

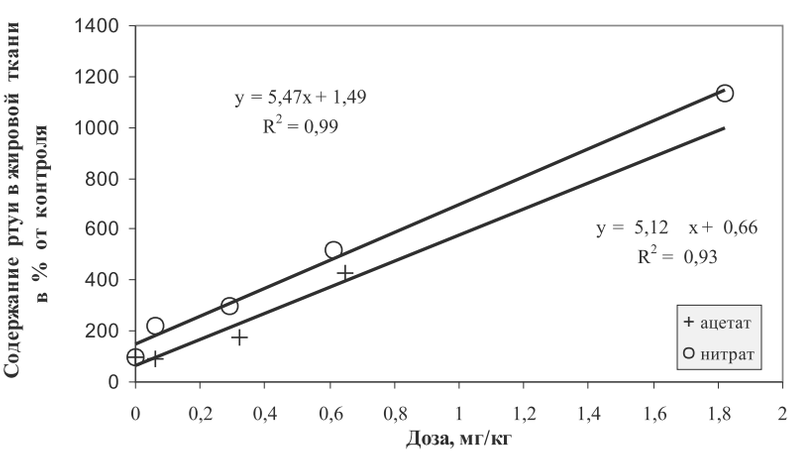


Рис. 3. Накопление ртути жировой тканью крыс при затравке АР и НР в различных дозах

Почки считаются основным органом, поражаемым ртутью. На рис. 1 в графической форме представлены данные о накоплении ртути почками при затравке крыс АР и НР в различных дозах.

Обращают на себя внимание два обстоятельства. Во-первых, совпадение данных для АР и НР. Если принять во внимание, что и контрольные значения практически неотличимы (табл. 1) друг от друга, то это совпадение можно считать практически абсолютным. Это наводит на мысль, что процесс накопления ртути в данном случае не зависел от формы аниона ртутного соединения. Во-вторых, процесс накопления ртути почками демонстрирует насыщение.

Доза более 0,3 мг/кг мало добавляет ртути в почечную ткань, т.е. «ртутная емкость» почек исчерпывается уже при относительно небольших дозах и составляет 240–250 мкг/кг в пересчете на абсолютные величины.

Накопление ртути тканями печени происходит более активно по сравнению с почками (рис. 2) – концентрация ртути увеличивается десятикрат-

но, хотя «ртутная емкость» печени (в абсолютных единицах) оказывается меньше, чем у почек и также в исследованном диапазоне доз ограничена. Кривая накопления НР проходит круче и выше, чем для АР (рис. 2), что подтверждается соответствующими коэффициентами аппроксимирующих квадратичных зависимостей.

В литературе имеются данные [8], что жировая ткань является депо ртути. На рис. 3 представлены в графическом виде соответствующие результаты.

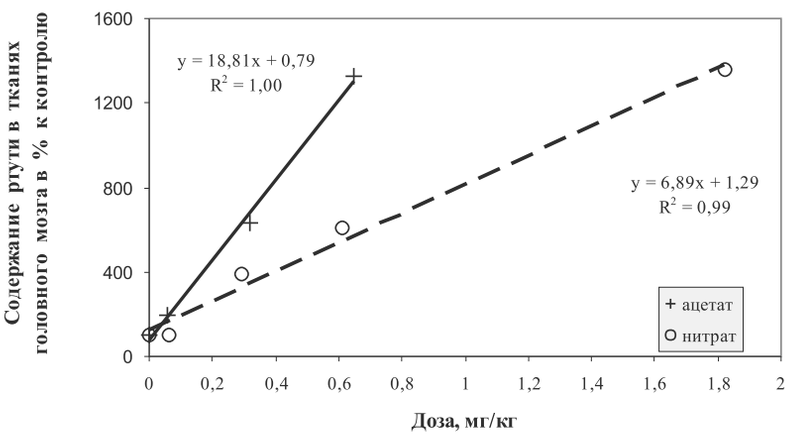


Рис. 4. Накопление ртути тканями головного мозга крыс при затравке АР и НР

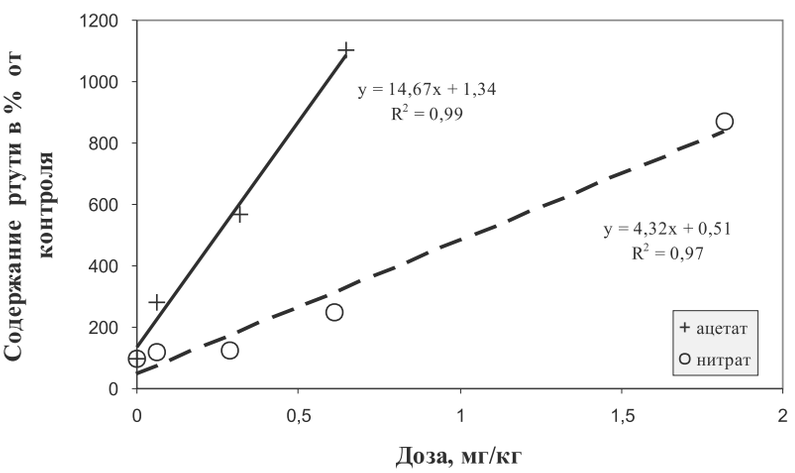


Рис. 5. Накопление ртути костной тканью крыс при затравке АР и НР

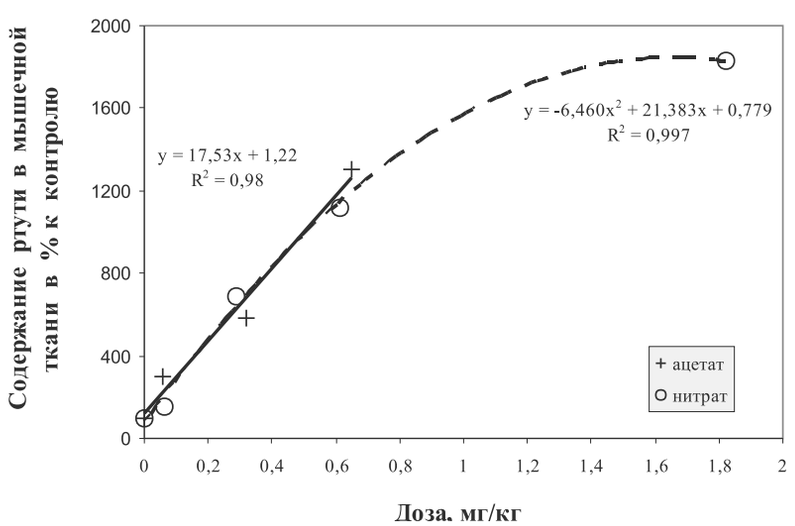


Рис. 6. Накопление ртути мышечной тканью крыс при затравке АР и НР

В обоих экспериментах имеет место линейный характер накопления ртути. Ни аналитические выражения, ни соответствующие графики для АР и НР не имеют принципиальных отличий друг от друга. Пересчет данных на абсолютные значения дает еще большее совпадение содержания ртути. Эти обстоятельства дают основание полагать, что накопление НР и АР в жировой ткани осуществляется, по-видимому, одними и тем же механизмами, не дискриминирующими анионные группы солей ртути.

Нарушения со стороны нервной системы при меркуриализме являются важным диагностическим признаком этой патологии [17]. Изучение накопления ртути тканями головного мозга могло бы в некоторой мере прояснить ситуацию – действительно ли ртуть поступает в ткани головного мозга, и в каком количестве это происходит. Как видно из рис. 4, накопление НР тканями головного мозга носит такой же линейный и неограниченный характер, как и накопление ртути жировой тканью (рис. 3).

Об этом свидетельствует близость значений коэффициентов при первом члене соответствующих уравнений – 5,47 и 6,89 (рис. 3 и 4). Накопление АР тканями головного мозга также носит линейный характер, но оно происходит гораздо активнее, коэффициент при первом члене уравнения почти в три раза больше – 18,81.

Характер накопления ртути костной тканью (рис. 5) очень напоминает накопление ртути тканями головного мозга (рис. 4) и носит хорошо выраженный линейный характер. АР поступает примерно в 3,5 раза активнее, чем НР. Можно полагать, что в данном случае свою роль сыграло то обстоятельство, что исходно в костной ткани в эксперименте № 1 ртути было меньше, т.е. свободная емкость больше, чем в эксперименте № 2 (табл. 1).

Таблица 1

Содержание ртути в органах и тканях контрольных животных (мкг/кг) экспериментов № 1 и № 2 и достоверность отличий соответствующих значений

	Кровь*	Почки	Печень	Жировая ткань	Головной мозг	Костная ткань	Мышечная ткань
Эксперимент № 1	17,2±1,42 n = 5	91,9±15,2 n = 7	16,0±3,70 n = 5	13,9±0,71 n = 5	3,9±0,85 n = 5	9,4±1,44 n = 5	6,8±1,41 n = 7
Эксперимент № 2	27,9±2,40 n = 3	89,8±11,7 n = 3	9,5±1,68 n = 3	11,4±3,80 n = 3	9,4±2,37 n = 3	54,4±9,45 n = 3	7,5±0,35 n = 3
P	0,006	> 0,05	> 0,05	> 0,05	0,037	0,0001	> 0,05

Примечание: * – содержание ртути в крови выражено в мкг/дм^3

Наши данные показывают, что костная ткань может избирательно накапливать ртуть, причем в концентрациях больших, чем в крови, о чем свидетельствуют соответствующие данные табл. 1 и коэффициенты распределения в табл. 2.

На начальных этапах, включая дозу 0,6 мг/кг, процессы накопления АР и НР мышечной тканью практически совпадают (рис. 6) и носят линейный характер. При увеличении дозы до 1,8 мг/кг линейность в накоплении НР исчезает, наступает эффект насыщения и процесс лучше описывается полиномиальной квадратичной зависимостью.

Интересно отметить, что линейные уравнения, описывающие накопление АР в мозгу (рис. 4), костной (рис. 5) и мышечной (рис. 6) тканях близки, что может свидетельствовать о подобии механизмов накопления ртути этими структурами.

Анализ данных о накоплении ртути в органах и тканях крыс показывает, что доза 0,3 мг/кг является наиболее показательной для характеристики этого процесса – совпадение данных для АР и НР или близко, если оно есть, или различия уже достаточно велики, если таковые констатируются.

Поступление ртути в органы и ткани происходит из крови, именно она является первичным депо токсиканта, именно кровь доставляет ртуть к органам и тканям. В связи с этим для описания процесса представляется полезным использовать такой показатель, как коэффициент распределения (K_p), т.е. отношение концентрации ртути в том или ином органе или ткани к концентрации ртути в крови при той же дозе. Если $K_p > 1$, то можно говорить об избирательном накоплении ртути соответствующей структурой; $K_p < 1$, по-видимому, свидетельствует о пассивном распределении ртути, возможно, наличии каких-то барьеров.

Данные о накоплении ртути и соответствующие K_p для дозы 0,3 мг/кг представлены в табл. 2.

Анализ данных табл. 2 свидетельствует о том, что почки в значительном количестве накапливают ртуть из крови, т.е. можно говорить об избирательном накоплении ртути почками, что еще раз подтверждает представление, что именно почки являются одной из основных мишеней действия ртути.

При дозе 0,3 мг/кг в печени накапливается около 95 мкг/кг при затравке НР, а для АР – 96 мкг/кг. В том и другом случае это больше чем в крови, т.е. можно констатировать избирательное накоплении ртути этим органом, хотя и в меньшей степени, чем в почках.

Содержание ртути в жировой ткани в абсо-

Таблица 2

Содержание ртути в органах и тканях крысы и Кр при затравке их АР и НР в дозе 0,3 мг/кг (мкг/кг)

Соль ртути	Содержание ртути в органах и тканях (мкг/кг)						
	кровь (мкг/л)	почки	печень	жировая ткань	головной мозг	костная ткань	мышечная ткань
АР n = 5	* 38,0±3,1	253,6±41,9 (6,67)	97,8±22,6 (2,57)	29,8±0,78 (0,78)	25,1±5,50 (0,66)	53,8±8,24* (1,41)	43,4±9,00 (1,14)
НР n = 3	* 61,7±5,1	239,0±31,1 (3,87)	78,0±13,8 (1,26)	35,7±0,58 (0,58)	31,6±8,00 (0,52)	98,5±13,1* (1,60)	49,6±2,31 (0,80)

Примечание: в скобках указано значение K_p; * – соответствующие значения достоверно отличаются, $p < 0.05$

Таблица 3

Параметры острой токсичности (по ртути) АР и НР ртути для крыс и мышей при различном способе введения [19]

Соединение ртути	DL_{50} для крыс, мг/кг		DL_{50} для мышей, мг/кг	
	перорально	накожно	перорально	интраперитонеально
$Hg(CH_3COO)_2$	65	570	52	6,5
$Hg(NO_3)_2$	26	75	25	7,2

лютных значениях (доза 0,3 мкг/кг) примерно равно 30 мкг/кг, т.е. при содержании ртути в крови, равном 61,7 мкг/л (нитрат) или 38,0 мкг/л (ацетат), говорить об избирательном характере накопления НР жировой тканью не приходится. Жировая ткань не обладает свойством избирательно накапливать ртуть, ее можно считать одним из депо ртути в организме с ненасыщенной и относительно незначительной емкостью (табл. 2). То же и в тех же пропорциях имеет место для тканей головного мозга, т.е. в данном случае НР и АР демонстрируют сходное отношение к близким по химическому составу тканям, представленных в основном липидами.

В мышечной ткани независимо от использованной для затравки соли ртути накапливается примерно равное количество токсиканта (табл. 2), яркого проявления избирательного накопления ртути в этой ткани не наблюдается.

Выпадает из этого ряда сопоставлений костная ткань, для которой отмечено избирательное накопление ртути, причем соответствующие коэффициенты распределения для АР и НР близки. Абсолютные значения отличаются, что мы объясняем различиями в исходных концентрациях ртути в костях животных разных выборок (табл. 1).

Можно констатировать, что для дозы 0,3 мг/кг коэффициенты распределения ртути для АР выше, чем для НР, т.е. АР обладает большим сродством к органам и тканям по сравнению с НР. Исключением из этого правила является костная ткань, особое положение которой может быть обусловлено достаточно высоким содержанием ртути в костях контрольных животных, а соответственно животных, поступивших из питомника. Если предположить, что в корме животных этой группы при выращивании в питомнике содержалось значительное количество ртути, например, присутствовала костная рыбная мука, то депонированная таким образом при росте скелета ртуть в последствии была обнаружена у контрольных животных, что отразилась на коэффициенте распределения. В пользу этого предположения свидетельствует и более высокое содержание ртути в крови контрольной группы животных эксперимента № 2.

Таким образом, в ряде случаев обнаружены как качественные, так и количественные отличия в процессах накоплении АР и НР некоторыми тканями и органами крыс. По-видимому, объяснение этому лежит прежде всего в отличиях физико-химических свойств этих веществ. Ацетат ртути является солью слабой уксусной кислоты, тогда как нитрат ртути – это соль сильной кислоты, соответственно степень диссоциации ацетата гораздо ниже, чем у НР. По-видимому, может также существовать, по аналогии с монометилртутью ($RHgCH_3$), достаточно устойчивый липофильный моноацетат ртути ($RHgCH_3COO$). Метильные группы ацетата придают АР, по сравнению с НР, большую липофильность, т.е. способность растворяться в жирах и проникать через клеточные барьеры. Характер аниона в ртутном соединении играет определяющую роль в растворимости, диссоциации и стойкости этого соединения и его ионизованных форм в растворах. Так, растворимость $Hg(CH_3COO)_2$ в воде составляет 0,78 моль/л, тогда как $Hg(NO_3)_2$ растворяется в воде с разложением, т.е. практически вся соль подвергается диссоциации [8, 18]. В связи с этим представляют значительный интерес данные об острой токсичности исследованных соединений ртути – табл. 3 [19]; видно, сколь значительно вид аниона сказывается на параметрах острой токсичности АР и НР.

В связи с этим интересно отметить, что если по накоплению в абсолютных единицах для всех органов и тканей, кроме крови и костной ткани, о которых было сказано выше, НР и АР для дозы 0,3 мг/кг мало отличимы (табл. 2), то об острой токсичности этих соединении того же сказать нельзя; для крыс НР, как минимум в два раза, более токсичен чем АР (табл. 3). Можно сделать вывод, что меньшая токсичность АР по сравнению с НР обусловлена худшим накоплением первого соединения в крови по сравнению со вторым, т.е. токсическое действие НР реализуется частично и за счет механизмов гемотоксичности.

Выводы. 1. Процессы дозо-зависимого накопления ацетата и нитрата ртути органами и тканями крыс имеют как общие, так и отличительные черты. Большей частью коэффициенты распределения ртути (относительно крови) для ацетата выше, чем для нитрата.

2. Характер накопления ртути почками и печенью, в отличие от накопления другими исследованными органами и тканями, носит нелинейный характер.

3. В токсическом действии нитрата ртути, по-видимому, задействованы механизмы гемотоксичности.

Список литературы

1. *Стойкие токсические вещества, безопасность питания и коренные народы российского Севера. – Осло: АМАП, 2004. – 79 с.*

2. *Загрязнение Арктики. Программа по мониторингу и оценке окружающей среды Арктики. – Осло: АМАП, 2002. – 112 с.*

3. ***Malov A.*** *Mercury Pollution in the Ground of Saint-Petersburg // Materials of 31st AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response. Canada. Calgary, 2008. www.etc-cte.ec.gc.ca/news/conferences_e.html*

4. ***Соболев М.Б.*** *Методы оценки и снижения токсического действия ртути в дозах малой интенсивности у детей. Автореф. дисс.... канд. – СПб., 1999. – 24 с.*

5. ***Farhana Z., Shamim R., Soghra K. et al.*** *Low dose mercury toxicity and human health // Environmental Toxicology and Pharmacology, 2005. – V. 20. – P. 351-360.*

6. ***Малов А.М., Карпова Л.С., Петров А.Н. и др.*** *Содержание ртути в крови женщин Санкт-Петербурга с различными сроками беременности // Токсиколог. вестник, 2001. – № 5. – С. 6-10.*

7. *Ртуть и ее неорганические соединения / Под ред. Н.Ф. Измерова. – М.: Центр международных проектов, 1998. – 116 с.*

8. *Органические соединения ртути. Научные обзоры советской литературы по токсичности и опасности химических веществ. Вып. 117 / Под ред. Н.Ф. Измерова. – М.: Центр международных проектов, 1989. – 69 с.*

9. ***Пономаренко А.М. и др.*** *Особенности распределения ртути в тканях и органах рыб в модельном эксперименте //Токсиколог. вестник, 2007. – № 1. – С. 22-25.*

10. ***Жуленко В.Н., Смирнова Л.А.*** *Влияние технологических процессов на остаточные количества пестицидов в мясопродуктах // Ветеринария, 1976. – № 2. – С. 94-96.*

11. ***Васьковская Л.Ф.*** *Циркуляция и трансформация хлор-, фосфор- ртутьпроизводных препаратов в системе окружающая среда – биологический объект. – Киев: Наукова думка, 1985. – 156 с.*

12. ***Рутковский Г.В., Малов А.М., Сибиряков В.К. и др.*** *Методические подходы к созданию стандартного образца предприятия состава ртути в крови // Здоровье и окружающая среда: Сб. научн. тр. Вып. 10 / ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены». – Минск: Друк-С, 2007. – С. 946-957.*

13. ***Stanton G., McGraw-Hill.*** *Primer of Biostatistics. Fourth edition, Inc. – New York, 1997. – 473 p.*

14. *Инструкция по эксплуатации анализатора ртути «Юлия-2». – Пенза, 1992. – 28 с.*

15. *МУК 4.1.1470-03 «Атомно-абсорбционное определение массовой концентрации ртути в биоматериалах при гигиенических исследованиях» // Сборник методических указаний – 4.1. Методы контроля. Химические факторы – Атомно-абсорбционное определение ртути в объектах окружающей среды и биологических материалах. – М.: Минздрав России, 2003.*

16. *ГОСТ 26927-86. Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути.*

17. ***Малов А.М., Иванова Т.М., Петров А.Н. и др.*** *Особенности диагностики и тактика ведения больных при меркуриализме // Токсиколог. вестник, 2004. – № 5. – С. 8-15.*

18. ***Гладышев В.П., Левицкая С.А., Филиппова Л.М.*** *Аналитическая химия ртути. – М.: Наука, 1974. – 230 с.*

19. ***Коршун М.Н.*** *О токсичности неорганических производных ртути // Гигиена и санитария, 1989. – № 1. – С. 69-70.*

Материал поступил в редакцию 17.03.09.

A.M. Malov, V.K. Sibiryakov, Ye.V. Semyonov

DISTRIBUTION OF MERCURY IN SOME ORGANS AND TISSUES OF RATS

Institute of Toxicology, St.-Petersburg

A dose-dependent distribution of mercury was investigated in some organs and tissues of rats with administration of mercury acetate and nitrate to animals. The distribution picture has both common and distinctive features which could be explained by the specific composition of tissues and physico-chemical peculiarities of mercury salts. Distribution factors for mercury acetate are higher than for mercury nitrate. The highest concentration of mercury was registered in kidneys and liver.

УДК 612.014.46

В.В. Юрченко, Ф.И. Ингель, Е.К. Кривцова, Н.А. Юрцева, Ю.А. Ревазова

ОЦЕНКА МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ АКРЕПА НА ТРЕХ ТКАНЯХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина РАМН, Москва

Отечественный репеллент Акреп (N-гексилоксиметилкапролактам) при однократном введении в желудок самцам мышей не индуцировал аберраций хромосом в метафазах и микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга в дозах от 3 до 640 мг/кг (¼ DL_{50}) и доминатных летальных мутаций в половых клетках самцов в дозе 280 мг/кг. При нанесении на кожу крыс эмульсии Акрофтал в дозе 350 мг/кг по Акрепу в течение 1,5 мес. не наблюдали повышения частоты гепатоцитов с микроядрами.

Ключевые слова: *костный мозг, печень, аберрации хромосом, микроядра, доминантные летальные мутации, репеллент Акреп.*

Введение. Акреп (N-гексилоксиметилкапролактам) является отечественным репеллентом, предназначенным для отпугивания кровососущих насекомых и клещей. По острой репеллентной активности против гнуса он не уступает эталонному препарату ДЭТА, а по длительности репеллентного действия превосходит его [4].

Мутагенную активность Акрепа изучали в соответствии с методическими рекомендациями [1]. На первом этапе работы препарат в разведениях 1:30, 1:100, 1:300 и 1:1000 был изучен в тесте Эймса на штаммах ТА 97, ТА 98 и ТА 100. При разведении 1:30 был отмечен бактериостатический эффект, особенно в варианте без метаболической активации (фракция S9). Мутагенные свойства Акрепа в использованных разведениях не были выявлены [2].

На втором этапе исследований оценили способность Акрепа вызывать цитогенетические нарушения в клетках костного мозга и доминантные летальные мутации в половых клетках мышей. В связи с тем, что общетоксическое действие Акрепа было связано с индукцией перекисного окисления липидов в печени, оценили также цитогенетическую активность Акрепа на гепатоцитах крыс.

Материалы и методы исследования. Использовали самцов и самок гибридов мышей F1 CBAxC 57Bl массой тела 20 г (ГУ Научный Центр биомедицинских технологий РАМН, филиал «Столбовая»). Масляные растворы Акрепа (ЗАО Щелково Агрохим) готовили непосредственно перед применением и вводили в желудок самцам мышей однократно в объеме 0,1 мл/10 г. Контрольным животным вводили в желудок подсолнечное масло в том же объеме, животным из группы положительного контроля – водный раствор циклофосфана (ЦФ) (Самара, Россия) в дозе 10 мг/кг подкожно.

Анализ метафазных пластинок и микроядер (МЯ) в клетках костного мозга проводили на группах мышей по 5–8 самцов, Акреп вводили в дозах от 3 мг/кг до 640 мг/кг (около ¼ DL_{50}). Через 22 ч после введения Акрепа для накопления метафаз животным вводили внутрибрюшинно колхицин 2,5 мг/кг, через 2 ч производили цервикальную дислокацию и выделяли бедренные косточки, из которых одну использовали для приготовления мазков с целью анализа микроядер [6], а другую – для получения клеток в стадии метафазы [5]. Мазки окрашивали по Нохту, препараты метафазных хромосом – красителем Гимза, затем зашифровывали и микроскопировали при увеличении 10×100. На мазках анализировали по 1000 полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) от каждой мыши, учитывали ПХЭ с МЯ. На метафазных препаратах от каждой мыши анализировали по 100 метафаз с модальным числом хромосом 40, в которых учитывали фрагменты одиночные и парные, обмены хроматидные и хромосомные.

В тесте на индукцию доминантных летальных мутаций использовали по 15 самцов мышей в группе, Акреп вводили в желудок однократно в дозе 280 мг/кг ($^1/_{10}$ DL_{50}). Подсадки самок производили в соотношении 3:1 еженедельно в течение 3 недель (анализ постмейотических стадий сперматогенеза). На 17 день беременности после цервикальной дислокации, учитывали количество живых и мертвых плодов, а также резорбции ранние и поздние. Фертильность выражали в виде доли забеременевших самок в процентах от числа подсаженных. Постимплантационную смертность выражали как отношение числа

Таблица 1

Аберрации хромосом в метафазах и микроядра в полихроматофильных эритроцитах костного мозга мышей после введения в желудок акрепа и циклофосфана

Вещество, мг/кг		Проанализировано метафаз	Фрагменты		Метафазы с аберрацией на 100	Проанализировано ПХЭ	ПХЭ с МЯ на 1000 ПХЭ
			одиночные	парные			
Контроль		800	11	1	1,5±0,5	6000	2,5±1,1
Акреп	3	600	4	0	0,7±0,5	6000	1,7±0,7
	10	477	5	0	1,1±0,6	5000	1,7±0,6
	30	600	6	1	1,2±0,5	6000	2,5±0,8
	90	600	4	1	0,8±0,5	6000	2,0±0,6
	160	600	2	0	0,3±0,3	6000	2,2±0,8
	320	600	10	0	1,7±0,5	6000	3,7±0,9
	418	500	10	1	2,2±0,7	4000	3,1±0,9
	480	500	2	1	0,6±0,4	6000	3,3±1,0
	640	600	5	0	0,8±0,5	6000	2,5±0,6
Циклофосфан	10	500	26	5	7,0±0,7*	6000	6,8±2,1*

Примечание: * – $p < 0,001$

мертвых имплантаций к сумме живых и мертвых эмбрионов.

На печени крыс изучали препаративную форму – эмульсию Акрофтал (ЗАО Щелково Агрохим) – на основе Акрепа (20%) и диметифталата (20%). Самцам белых крыс массой тела 200 г (ГУ Научный Центр биомедицинских технологий РАМН, филиал «Крюково») на выстриженный участок спинки 5×6 см наносили эмульсию в дозе 1750 мг/кг (26 норм расхода [3]) ежедневно 5 дней в неделю в течение 1,5 месяцев. Контрольным крысам наносили основу эмульсии. Каждая группа состояла из 10 крыс. По завершении экспозиции животным удаляли ⅔ печени. Удаленные в процессе операции, а также полученные на 4-е сутки после операции кусочки печени фиксировали в нейтральном формалине и готовили препараты диссоциированных клеток в соответствии с методическими рекомендациями [6]. Препараты окрашивали ацетоорсеином и зеленым светлым, шифровали и микроскопировали при увеличении 10×100. Анализировали по 1000 гепатоцитов от каждого животного в соответствии с расширенным протоколом микроядерного теста, разработанным нами ранее для эпителия слизистой оболочки щеки [8]. Учитывали клетки с высоковероятными и сомнительными МЯ, протрузиями ядра (выбухания в цитоплазму, имеющие форму везикулы, ниппеля или разбитого яйца), двуядерные клетки и клетки в митозе.

Таблица 2

Индукция Акрепом доминантных летальных мутаций в половых клетках самцов мышей

Неделя подсадок	Вариант опыта	Число беременных самок	Фертильность, %	Постимплантационная смертность, %	χ^2
1	контроль	36	80	6,6±1,4	
	акреп	41	89,1	5,6±1,5	0,27
	циклофосфан	36	81,1	9,0±2,0	1,66
2	контроль	40	88,9	7,7±0,3	
	акреп	36	81,1	7,3±1,6	0,05
	циклофосфан	38	84,4	8,5±1,9	0,27
3	контроль	40	88,9	4,7±1,1	
	акреп	38	90,5	6,2±1,4	0,34
	циклофосфан	39	86,7	9,3±2,0 *	4,62

Примечание: * – $p < 0,05$

Таблица 3

Влияние эмульсии Акрофтал на цитогенетические и кариологические показатели гепатоцитов

Показатель (частота на 1000 клеток)	Число клеток на 1000 (среднее значение ± ошибка среднего)			
	до регенерации		после регенерации	
	контроль	опыт	контроль	опыт
МЯ	0,4±0,2	0,3±0,2	11,9±1,0	10,4±1,3
Сомнительное МЯ	0,2±0,1	0,1±0,1	6,9±1,1	6,8±1,5
Протрузия ядра	0,0±0,0	0,1±0,1	1,7±0,5	1,6±0,4
Двуядерность	143,1±9,2	165,9±8,9	81,6±8,3	114,7±11,4
Митоз	0,5±0,3	0,6±0,4	5,8±0,8	9,2±1,3*
Профаза	0,2±0,1	0,2±0,2	0,5±0,3	2,2±0,4*
Метафаза	0,3±0,2	0,2±0,1	3,2±0,5	4,6±0,6
Ана-телофаза	0,0±0,0	0,1±0,1	2,1±0,4	2,4±0,7

Примечание: * – $p < 0,01$ по сравнению с соответствующим контролем

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью дисперсионного анализа, различия между группами крыс по частоте двуядерных клеток оценивали с применением t-критерия Стьюдента, по всем остальным показателям – критерия соответствия χ^2.

Результаты и обсуждение. Данные цитогенетических исследований на клетках костного мозга мышей приведены в табл. 1.

Аберрации хромосом в основном были представлены одиночными разрывами. Обмены наблюдались после воздействия циклофосфана в клетках, имеющих множественные фрагменты. Как видно из табл.1, Акреп не индуцировал аберраций хромосом в метафазах и микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга при его воздействии в диапазоне доз вплоть до ¼ DL_{50}.

Результаты, полученные в тесте на индукцию доминантных летальных мутаций в половых клетках самцов мышей, представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, фертильность самцов в течение опыта не изменялась как в контроле, так и после воздействия Акрепа в дозе 280 мг/кг и

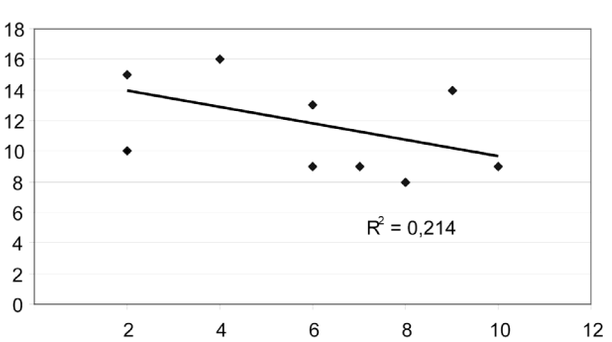


Рис. Зависимость частоты гепатоцитов с МЯ от уровня остаточной пролиферации клеток печени

По оси абсцисс: митотический индекс у животных контрольной группы; по оси ординат: частота клеток с МЯ

циклофосфана в дозе 10 мг/кг. Уровень постимплантационной смертности плодов не изменялся после введения самцам Акрепа и увеличивался только после воздействия циклофосфана на ранние сперматиды.

Результаты анализа микроядер в гепатоцитах крыс представлены в табл. 3. Как видно из табл. 3, собственно процесс регенерации печени у животных сопровождался увеличением частоты не только МЯ (что было ранее отмечено в литературе [10]), но и протрузий ($\chi^2 = 18,91$ в опыте и $\chi^2 = 11,28$ в контроле). При этом процентное соотношение между частотами протрузий в форме везикулы, ниппеля и разбитого яйца составило 69,7, 21,2 и 9,1% соответственно. Очевидно, что в процессе прохождения клеточного цикла выявились накопленные спонтанные или индуцированные потенциальные нарушения хромосом.

Частоты клеток с высоковероятными МЯ, а также с протрузиями ядра и сомнительными МЯ (предположительные маркеры генотоксичности) не различались при попарном сравнении опытных групп с контрольными как до, так и после восстановительной регенерации.

В связи с драматическим влиянием полноты регенерации ткани на выявляемость индуцированных МЯ [7] представляется необходимой оценка полноты регенерации, для чего рекомендовано учитывать частоту двуядерных гепатоцитов или делящихся клеток [7, 9, 11, 12].

При рутинной оценке цитогенетической активности различных факторов на гепатоцитах обычно используют только материал, полученный через несколько дней после операции. Поскольку в ходе регенерации происходит снижение частоты двуядерных клеток, принято считать одинаковой полноту регенерации в опыте и контроле в том случае, когда на 3–4 сутки по-

сле операции частота двуядерных клеток в этих группах значимо не различается [7, 11, 12]. В соответствии с таким подходом данные из табл. 3 не позволяют установить задержку регенерации печени у крыс опытной группы по сравнению с контрольной.

Другой подход заключается в оценке отставания основной волны митозов по повышенной частоте метафаз на спаде пролиферации через 4 суток после операции [12]. Нет различий по частоте метафаз между опытной и контрольной группами ($\chi^2 = 2,27$) (табл. 3).

В соответствии с третьим подходом сравнивают частоты всех клеток в митозе [9]. В нашем опыте митотический индекс на 4-е сутки после операции у животных опытной группы почти вдвое выше, чем в контрольной ($\chi^2 = 7,53$), в основном за счет профаз ($\chi^2 = 10,69$). Таким образом, выявлены два маркера отставания пролиферации –частота клеток в профазе и в митозе в целом. Однако оба они оказались слабо связаны с частотой клеток с МЯ: значение R^2 составляло от 0,214 до 0,022. Экстраполяция, произведенная на основании самой сильной связи, показанной на рис., приводит лишь к более точному выравниванию уровня МЯ в опыте и контроле.

Заключение. Акреп не индуцировал аберраций хромосом и микроядер в клетках костного мозга (до ¼ DL_{50} однократно) и доминатных летальных мутаций в половых клетках самцов мышей ($^1/_{10}$ DL_{50} однократно), а также микроядер в гепатоцитах крыс (350 мг/кг по Акрепу, накожно, повторно).

Список литературы

1. ***Дурнев А.Д., Ревазова Ю.А., Верстакова О.Л. и др.*** *Методические указания по оценке мутагенных свойств фармакологических веществ //В кн. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (ред. Р.У. Хабриев). – М., 2005. – С. 100-122.*

2. ***Кривцова Е.К.*** *Оценка мутагенной активности репеллента Акреп в тесте Эймса // 3-й съезд токсикологов России 2–5 дек 2008 г. Москва. Тез. докл. – М.: РПОХВ, 2008. – С. 157-159.*

3. *Методические рекомендации по отбору и изучению биологической активности и токсичности репеллентов. Утв. Нач. Гл. Упр. карантинных инфекций МЗ СССР В.П. Сергиевым 14.07.87 № 24–6/24. – М., 1987. – 60 с.*

4. ***Наумов Ю.А., Шашина Н.И., Маркина В.В. и др.*** *N-гексилоксиметилкапролактам, обладающий инсекто- и акарорепеллентной активностью. Патент 2017732 (Зарегистрирован в Гос. Реестре изобретений 15 авг. 1994 г. – 10 с.*

5. *Определение мутагенности химических соединений (генетический скрининг) на лабораторных мышах (методические указания). – М.: Медицина, 1977. – 12 с.*

6. *Оценка мутагенной активности химических веществ микроядерным методом (Метод. рек. Утв. зам. нач. Гл. Упр.карантинных инфекций МЗ СССР О.Г. Имамалиевым 03.04.84 № 28-6/10). – М., 1984. – 17 с.*

7. ***Урываева И.В.*** *Перспективы разработки и применения в экологических исследованиях цитогенетического метода анализа микроядер в гепатоцитах // РАН Известия Сер. Биол., 1993. – № 1. – С. 88-94.*

8. ***Юрченко В.В.*** *Цитогенетические нарушения в эпителии щеки человека при экспозиции генотоксикантами //Токсикол. вестник, 2005. – № 6. – С. 14-21.*

9. ***Braithwaite I., Ashby J.*** *A non-invasive micronucleus assay in the rat liver // Mutat Res., 1988. – V. 203. – № 1. – P. 23-32.*

10. ***George E., Burlinson B., Gatehouse D.*** *Genotoxicity of the 1- and 2-nitropropane in the rat // Carcinogenesis, 1989. – V. 10. – № 12. – P. 2329-2324.*

11. ***Poll van de M.L.M., Hulst van der D.A.M., Tates A.D. et al.*** *The role of specific DNA adducts in the induction of micronuclei by N-Hydroxi-2-acetilaminofluorene in rat liver in vivo // Carcinogenesis, 1989. – V. 10. – № 4. – P. 717-722.*

12. ***Tates A.D.*** *A micronucleus test for hepatocytes to detect mutagens in rat liver in vivo // Mutat Res., 1980. – V. 74. – № 3. – P. 235-236.*

Материал поступил в редакцию 29.01.09.

V.V. Yurchenko, F.I. Ingel, Ye.K. Krivtsova, N.A. Yurtseva, Yu.A. Revazova

ASSESSMENT OF MUTAGENIC ACTIVITY OF ACREP WITH THE USE OF THREE TISSUES OF MAMMALS

A.N. Sysin Research Institute for Human Ecology and Environmental Health, Russian Academy of Medical Sciences

A domestic repellent Acrep (N-hexyloximethylcaprolactum) did not induce aberrations of chromosome in metaphases and those of micronuclei in polychromatophylic erythrocytes of bone marrow at a single intragastric administration to male mice in doses of 3 to 640 mg/kg (¼ of LD_{50}) and dominant lethal mutations in sex cells of male mice at a dose of 280 mg/kg. While applying the emulsion AKROFTAL as AKREP to the rat skin in a dose of 350 mg/kg, within 1.5 months, no increased frequency of hepatocytes with micronuclei was observed.

УДК 612.2.017.1.014.4

Н.И. Шеина

ЗНАЧЕНИЕ ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНОЙ ЗАЩИТЫ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПРИ ГИГИЕНИЧЕСКОМ НОРМИРОВАНИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ШТАММОВ

ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет Росздрава, Москва

Показано, что при воздействии большинства изученных микроорганизмов (*Bacillus, Rhodococcus, Aspergillus, Penicillium*) развивается клеточная реакция дыхательных путей, характерная для воспалительного процесса. Она формируется за счет повышенной миграции нейтрофилов в назальном отделе, макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов – в бронхо-легочном отделе респираторного тракта. При этом происходит повышение микробоцидной активности фагоцитов, выявляемой в НСТ-тесте. Усиление действующего фактора вызывает более выраженную ответную клеточную реакцию.

Предложено использовать показатели функционально-метаболической активности фагоцитов в качестве интегральных для оценки опасности биотехнологических штаммов и их гигиенического нормирования.

Ключевые слова: *биотехнологические штаммы, гигиеническое нормирование, назальный и бронхо-легочный лаваж, НСТ-тест.*

Введение. Клинико-гигиеническими исследованиями показано, что у работников биотехнологической промышленности в условиях загрязненности воздушной среды штаммами-продуцентами наблюдаются заболевания органов дыхания. При изучении состояния здоровья рабочих производства кормовых дрожжей, ферментных и инсектицидных препаратов частота заболеваний лор-органов составляет 64%. В структуре профессиональной патологии бронхо-легочного аппарата преобладают хронические субатрофические риниты, фарингиты, ларингиты и бронхиты с обструктивной дистрофией отделов бронхов [3, 4]. Заболевания органов дыхания, но менее выраженные, отмечаются также у населения, проживающего в селитебных зонах.

Однако при нормировании промышленных микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе оценка клеточной реактивности респираторного тракта, как правило, не проводилась [6]. В этом отношении известны только работы Н.П. Сергеюк и соавторов [9, 10], посвященные изучению морфо-функциональной активности альвеолярных макрофагов при действии штаммов-продуцентов.

Задача исследования. Количественная функционально-метаболическая оценка клеток лаважной жидкости назального и бронхо-легочного отделов дыхательного тракта животных при ингаляции промышленных микроорганизмов в минимально эффективных концентрациях.

Объекты и методы исследования. В эксперименте были использованы непатогенные штаммы промышленных микроорганизмов: *Alcaligenes denitrificans* С-32, продуцент нитрилазы, *Bacillus licheniformis* 60, продуцент комплекса термостабильных амилолитических и протеолитических ферментов, *Aspergillus awamori Nakazawa* ВУД Т-2 1000-У, продуцент глюкоамилазы, *Rhodococcus corallinus, Rhodococcus erythropolis* и *Pseudomonas caryophylii*, используемые для очистки воздуха от углеводородов нефти.

Белые беспородные крысы популяции Wistar массой 290–320 г подвергались интраназальному введению промышленных микроорганизмов в течение 1 месяца в дозах, соответствующих расчетно-поглощенным концентрациям $5 \cdot 10^3$–$5 \cdot 10^7$ кл/м^3 при ингаляции [6].

Лаважную жидкость получали из назального и бронхо-легочного отделов дыхательных путей под глубоким тиопенталовым наркозом, используя подогретый (37°С) физиологический раствор. В камере Горяева подсчитывали общее количество клеток в 1 мл. Из клеточной взвеси нативного лаважа готовили цитологические препараты и окрашивали по Гимзе-Романовскому. Для определения цитограммы – процентного соотношения макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов, в каждом случае подсчитывали 100 клеток при увеличении 10×70 (водная иммерсия) [7, 8].

Для оценки фагоцитарной функции нейтрофилов и макрофагов был использован НСТ-тест, характеризующий кислородзависимые микробоцидные системы фагоцитов. Нитросиний тетразолий (НСТ) является окислительно-восстановительным красителем желтого цвета, который в фаголизосомах функционально активных фагоцитов восстанавливается до синего формазана. Количество клеток (%), содержащих глыбки восстановленного формазана, учитывали при

Таблица 1

Клеточная реакция лаважной жидкости назального отдела респираторного тракта при воздействии промышленных микроорганизмов

Концентрация микроорганизма, кл/м^3	Нейтрофилы, $\cdot 10^6$ кл/мл	Лимфоциты, $\cdot 10^6$ кл/мл	Макрофаги, $\cdot 10^6$ кл/мл	Общая концентрация, $\cdot 10^6$ кл/мл
Контроль	0,470±0,097	0,153±0,031	0,078±0,022	0,658±0,100
R. corallinus, $3 \cdot 10^6$	0,620±0,211	0,314±0,155	0,138±0,043	1,072±0,278
R. erythropolis, $5 \cdot 10^7$	0,461±0,049	0,183±0,028	0,040±0,004	0,685±0,075
R. erythropolis, $5 \cdot 10^8$ ($Lim_{citotox}$)	1,064±0,106**	0,266±0,037	0,099±0,087	1,419±0,115**
Контроль	0,355±0,048	0,170±0,023	0,048±0,006	0,574±0,076
B. subtilis, 72 $5 \cdot 10^5$ (Lim_{sens})	1,054±0,237**	0,404±0,139	0,207±0,072**	1,66±0,44*
B. subtilis, 72 $5 \cdot 10^6$	1,097±0,187***	0,382±0,087*	0,096±0,020*	1,576±0,27**
Контроль	0,355±0,048	0,170±0,023	0,048±0,006	0,573±0,080
A. awamori, $2 \cdot 10^4$ (Lim_{sens})	0,585±0,093*	0,175±0,033	0,072±0,020	0,832±0,141
A. awamori, $2 \cdot 10^5$	0,753±0,084***	0,191±0,024	0,064±0,006	1,008±0,110***
P. funiculosum, $2 \cdot 10^5$	0,932±0,146***	0,259±0,048	0,063±0,019	1,43±0,18***

Примечания. Здесь и в табл. 2: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$

микроскопии препаратов фагоцитов, инкубированных с НСТ и окрашенных сафранином [1, 2].

Результаты и обсуждение. Назальный лаваж контрольных животных представлен в основном нейтрофилами, отчасти лимфоцитами и отдельными макрофагальными клетками. При воздействии большинства изученных штаммов отмечали увеличение содержания нейтрофилов на фоне увеличения общего клеточного состава назального лаважа (табл. 1).

Лаваж бронхо-легочного отдела по сравнению с назальным отделом у интактных животных в норме содержит большее количество макрофагов и лимфоцитов. Воздействие промышленных штаммов приводило к увеличению содержания макрофагов, лимфоцитов и нейтрофилов в лаваже нижних дыхательных путей подопытных животных (табл. 2).

Суммируя полученные результаты, нужно признать, что при воздействии большинства изученных микроорганизмов (*Bacillus, Rhodococcus, Aspergillus, Penicillium*) развивается клеточная реакция респираторного тракта, характерная для воспалительного процесса. Она формируется за счет повышенной миграции нейтрофилов в назальном отделе, макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов – в бронхо-легочном отделе дыхательного тракта. При этом ответная клеточная реакция носит дозозависимый характер (табл. 1 и 2).

Вместе с тем, повышенная миграция клеток в очаг воспаления сопровождалась не только повышением активности лизосомальных ферментов альвеолярных макрофагов, что указывалось авторами [9, 10]. Нами установлено, что воздействие промышленных микроорганизмов приводило к дозозависимому увеличению количества фагоцитов, содержащих формазанположительные гранулы, и повышению их микробоцидной активности (рис. 1). Так называемый «метабо-

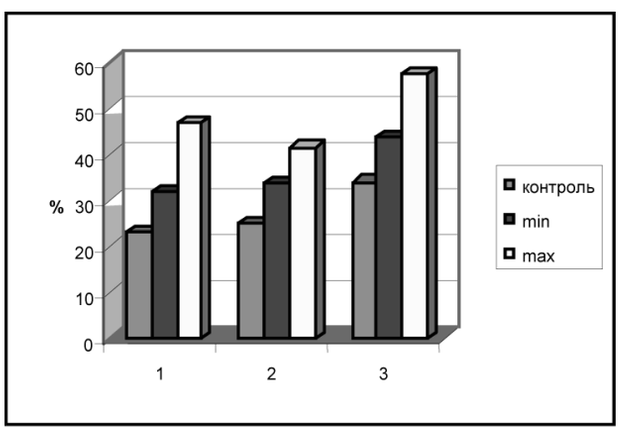
Таблица 2

Клеточная реакция лаважной жидкости бронхо-легочного отдела респираторного тракта при воздействии промышленных микроорганизмов

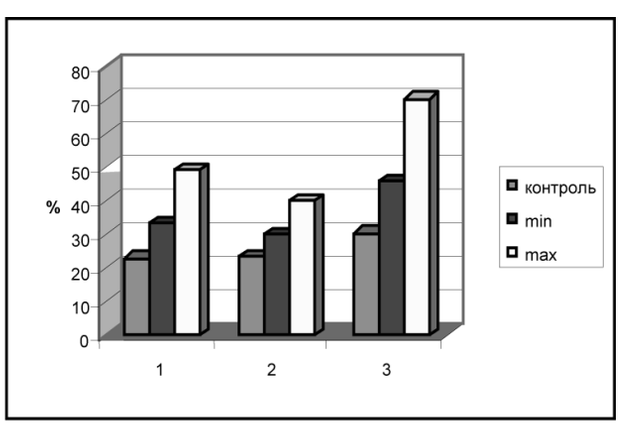
Концентрация микроорганизма, кл/м^3	Нейтрофилы, $\cdot 10^6$ кл/мл	Лимфоциты, $\cdot 10^6$ кл/мл	Макрофаги, $\cdot 10^6$ кл/мл	Общая концентрация, $\cdot 10^6$ кл/мл
Контроль	0,306±0,060	0,367±0,063	0,141±0,025	0,816±0,132
R. corallinus, $3 \cdot 10^6$	0,309±0,050	0,186±0,040	0,181±0,032	0,661±0,077
R. erythropolis, $5 \cdot 10^7$	0,955±0,270	0,422±0,145	0,346±0,076	1,723±0,458
R. erythropolis, $5 \cdot 10^8$ ($Lim_{citotox}$)	1,229±0,194**	0,608±0,085**	0,583±0,155*	2,420±0,398**
Контроль	0,481±0,074	0,289±0,046	0,191±0,035	0,961±0,146
B. *subtilis 72*, $5 \cdot 10^5$ (Lim_{sens})	1,134±0,208**	0,744±0,206**	0,497±0,117**	2,380±0,47**
B. subtilis 72, $5 \cdot 10^6$	0,916±0,030*	0,571±0,088**	0,567±0,088***	2,06±0,43**
Контроль	0,481±0,074	0,289±0,046	0,191±0,035	0,961±0,146
A. awamori, $2 \cdot 10^4$ (Lim_{sens})	0,610±0,093	0,336±0,031	0,347±0,020**	1,293±0,060
A. awamori, $2 \cdot 10^5$	0,990±0,244*	0,438±0,100	0,545±0,100**	1,973±0,390**
P. funiculosum, $2 \cdot 10^5$	0,940±0,207	0,662±0,016*	0,296±0,049*	1,90±0,041**

лический взрыв» в фагоцитах, характерный для обезвреживания микроорганизмов, происходил путем увеличения свободных форм кислорода (супероксид аниона, пероксид водорода, гидроксильного радикала и в нейтрофилах гипохлорида) и сопровождался окислением светложелтого НСТ до формазана темносинего цвета [12].

Следует отметить, что повышение метаболической активности фагоцитов характеризовалось также увеличением количества гранул формазана в функционально активных фагоцитах. Так, у контрольных животных основная масса фагоцитов содержала только единичные гранулы, в то же время у подопытных животных в зависимости от концентрации микробиологического фактора в цитоплазме выявлялось от нескольких гранул до конгломератов гранул формазана, заполняющих всю клетку. Стимуляция метаболической активности фагоцитов при воздействии штаммов-продуцентов, выявляемая в НСТ-тесте, характеризует естественный процесс неспецифической защиты дыхательных путей от микробной инфекции.



А



Б

Рис. 1. Количество (%) формазанположительных нейтрофилов (1) в назальном отделе, формазанположительных нейтрофилов (2) и макрофагов (3) в бронхолегочном отделе дыхательных путей при воздействии промышленных микроорганизмов

А: *B. subtilis 72*, min – $5 \cdot 10^5$ кл/м^3 (Lim_{sens}) и max – $5 \cdot 10^6$ кл/м^3, Б: *A. awamori*, min – $2 \cdot 10^4$ кл/м^3 (Lim_{sens}) и max – $2 \cdot 10^5$ кл/м^3

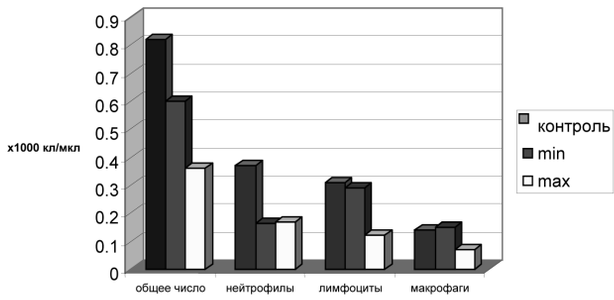


Рис. 2. Клеточный состав бронхо-легочного лаважа респираторного тракта при воздействии *P. caryophylii*

Концентрации: $5 \cdot 10^4$ кл/м^3 (min, Lim_{sens}) и $5 \cdot 10^5$ кл/м^3 (max)

Иная реактивность клеточных элементов была выявлена на воздействие грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas, Alcaligenes*). При воздействии этих бактерий в концентрации на уровне 10^4–10^5 кл/м^3 наблюдалось уменьшение общего количества клеток в лаважной жидкости верхних и нижних отделов дыхательного тракта за счет снижения преимущественно нейтрофилов и макрофагов (рис. 2). Полученные данные объясняются высокими адгезивными свойствами клеточной оболочки, а также способностью грамотрицательных бактерий нарушать кислородную метаболическую активность фагоцитов [5, 15, 16].

Заключение. Проведенные исследования показали, что значения миграционной и метаболической активности фагоцитов респираторного тракта меняются в зависимости от воздействующей концентрации промышленных микроорганизмов. Минимальные функционально-метаболические изменения фагоцитов были отмечены на пороговых уровнях по иммунотропному, в том числе и сенсибилизирующему эффекту [11, 14].

Необходимость использования функционально-метаболических показателей клеточной защиты респираторного тракта как первой мишени действия микроорганизмов подтверждается тем, что при воздействии непатогенных микроорганизмов в минимально эффективных концентрациях отсутствует изменение интегральных показателей, характеризующих общее токсическое действие их на органы и системы организма (нервную систему, печень, почки и др.) [9, 13].

В методическом плане предложенная оценка неспецифической клеточной защиты дыхательного тракта технически проста в исполнении, информативна и адекватна воздействующей концентрации микробиологического фактора.

Список литературы

1. ***Бажора Ю.И., Тимошевский В.Н., Протченко П.З.*** *Упрощенный метод NBN-теста // Лаб. дело, 1981. – № 4. – С. 198-199.*

2. ***Бумагина Т.К., Шмелев Е.И.*** *Использование активированного НСТ-теста для выявления расстройств фагоцитоза при воспалительных заболеваниях легких //Там же. – С. 200-202.*

3. ***Кучук А.А.*** *Общая и профессиональная патология внутренних органов у работниц микробиологического синтеза ферментных препаратов. В сб. «Проблемы охраны труда и здоровья женщин на современном этапе и пути их решения». Тезисы докл. Всес. научно- практической конференции. – Иваново, 1988. – Ч. 2. – С. 282-284.*

4. ***Кучук А.А., Савченко И.Л., Юречко Е.И.*** *Гигиеническая оценка производственной среды на заводах микробиологического синтеза ферментных препаратов //Гиг. труда и профзаболевания, 1989. – № 4. – С. 16-18.*

5. ***Лобашевский А.Л.*** *Миграционная и адгезивная активность полиморфно-ядерных лейкоцитов клинически здоровых доноров под влиянием грамотрицательных бактерий // Патология, физиология и эксперим. терапия, 1986. – № 1. – С. 28-31.*

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

7. ***Младковская Т.Б.*** *Эндопульмональная цитограмма и пролиферация альвеолярных макрофагов в норме и при адаптивных реакциях. Автореф. дисс. канд. – М., 1991. – 24 с.*

8. ***Романова Л.К., Младковская Т.Б.*** *Особенности эндопульмональной цитограммы при компенсаторной гипертрофии легкого // Бюлл. эксперим. биологии и медицины, 1987. – Т. CIII. – № 3. – С. 363-366.*

9. ***Сергеюк Н.П., Супрун И.П., Буянов В.В.*** *Санитарно-эпидемиологическое нормирование промышленных микроорганизмов. – Черноголовка: ИПХФ РАН, 2003. – 288 с.*

10. ***Сергеюк Н.П., Королева Н.И., Мао Х.*** *Математическое моделирование в токсикологии промышленных микроорганизмов // Токсиколог. вестник, 2004. – № 1. – С. 25-30.*

11. ***Скрябина Э.Г., Шеина Н.И.*** *Экспериментальная оценка иммунотропной активности промышленных микроорганизмов // Russian J. of Immunology, 2004. – V. 9. – Suppl. Объединенный иммунологический форум. – P. 123.*

12. ***Тотолян А.А., Фрейдлин И.С.*** *Клетки иммунной системы. – СПб.: Наука, 1999. – Т. 1–2. – 231 с.*

13. ***Трахтенберг И.М., Тимофиевская Л.А., Квятковская И.Я.*** *// Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей. Отв. ред. И.М. Трахтенберг. – Рига: Зинатне, 1987. – 172 с.*

14. ***Шеина Н.И., Скрябина Э.Г., Иванов Н.Г.*** *Сравнительная характеристика иммунотропной активности промышленных микроорганизмов при гигиеническом нормировании // Токсиколог. вестник, 2005. – № 3. – С. 12-15.*

15. ***Bishop M.B., Baltch A.L., Hill L.A. et al.*** *The effect of P. aeruginosa cytotoxin and toxin A on human polymorphonuclear leucocytes // J. Med. Microbiol., 1987. – V. 24. – P. 315-324.*

16. ***Sorensen R.U., Klinger J.D.*** *Biological effects of P. aeruginosa phenazine pigments // Antibiot. Chemother., 1987. – V. 39. – P. 113-124.*

Материал поступил в редакцию 20.11.08.

N.I. Sheina

SIGNIFICANCE OF CELLULAR PROTECTION ASSESSMENT OF RESPIRATORY TRACT IN HYGIENIC REGULATION OF BIOTECHNOLOGICAL STRAINS

Russian State Medical University, Moscow

It was shown that at the exposure to the majority of investigated microorganisms (*Bacillus, Rhodococcus, Aspergillus, Penicillium*), a cellular response of respiratory tracts indicative for inflammatory processes is developing. The response is formed on account of an increased migration of neutrophyls in the nasal department, macrophages, neutrophyls and lymphocytes in broncho-pulmonary zone of the respiratory tract. Thus microbicidal activity of phagocytes is increasing which is revealed by Nitro blue tetrazolium test. The strengthening of the acting factor causes a more expressive cellular response.It is recommended to use indicators of the phagocytes functional and metabolic activity as integral to assess the hazard of biotechnological strains and their hygienic regulation.

УДК: 615.9:591.4

Л.М. Соседова[1], С.С. Голубев[2], Е.А. Титов[1]*

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВИНИЛХЛОРИДА НА ТКАНЬ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС В ДИНАМИКЕ ПОСТКОНТАКТНОГО ПЕРИОДА

[1]Ангарский филиал – НИИ медицины труда и экологии человека ГУ НЦМЭ ВСНЦ СО
[2]Областной диагностический центр, Иркутск

Рассмотрены патоморфологические проблемы токсического действия винилхлорида на ЦНС. Показаны морфофункциональные нарушения в ткани головного мозга белых крыс, подвергшихся длительному ингаляционному воздействию винилхлорида, развившиеся сразу после окончания экспозиции и в отдаленный постконтактный период.

Ключевые слова: *винилхлорид, нейроинтоксикация, патоморфология, головной мозг, белые крысы.*

Введение. В настоящее время вопрос о винилхлоридной болезни остается по-прежнему актуальным для профессиональной патологии, медицины труда и экологии человека в целом и обусловленным не только широким его использованием в промышленности, но и в связи с интенсивным внедрением химической продукции во все отрасли народного хозяйства. В числе приоритетных являются исследования механизмов токсических поражений нервной системы, в том числе и отсроченной нейротоксичности [10, 11]. Известно, что при длительном контакте с ним в производственных условиях может развиваться функциональная и органическая патология центральной и периферической нервной системы [1, 2, 4, 5, 9]. В основе винилхлоридной болезни лежит поражение глубинных неспецифических структур головного мозга и, в первую очередь, ретикулярной формации ствола мозга [4]. Ранее проведенными нами исследованиями показано, что длительное ингаляционное воздействие винилхлорида вызывает у белых крыс в отдаленном постконтактном периоде нарушения целостной структуры поведения, характерные для поражения ЦНС [8].

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные острой и хронической нейроинтоксикации винилхлоридом, остаются недостаточно изученными механизмы формирования в ЦНС последствий воздействия в отдаленном постконтактном периоде, в том числе и морфофункциональных, исследовать которые в динамике возможно лишь при помощи экспериментального моделирования нейроинтоксикации винилхлоридом.

Целью наших исследований являлась морфофункциональная оценка состояния нервной ткани головного мозга и ткани печени белых крыс при экспериментальном моделировании нейроинтоксикации винилхлоридом в динамике постконтактного периода.

Материалы и методы исследования. Хроническое ингаляционное воздействие винилхлоридом проводили в зимний период в 200-литровых газовых камерах на 48 белых крысах (32-опытных и 16-контрольных). Общая продолжительность воздействия ксенобиотика составляла 8 недель, по 4 ч ежедневно, исключая выходные дни со средней концентрацией винилхлорида 1220,0±99,5 мг/м^3. Патоморфологическое обследование проводили в 2 этапа: непосредственно после окончания ингаляционного воздействия (1 группа) и спустя 9 недель после окончания экспозиции (2 группа). Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986).

Белых крыс забивали путем декапитации. Головной мозг фиксировали в 70% растворе спирта, а печень – в 10–12% растворе нейтрального формалина, с последующей заливкой в парафин. Срезы головного мозга и печени толщиной 5 мкм окрашивали общепринятыми методами: гематоксилин-эозином, по Нисслю, по Ван-Гизону [3, 6]. В нефиксированных срезах, приготовленных в криостате, гистохимически определяли содержание жира, гликогена, активность сукцинаддегидрогеназы (СДГ) [7]. Результаты оценивали полуколичественно, в условных единицах цитохимического индекса. Микроскопическое морфометрическое исследование препаратов проводили с помощью компьютерной

* фрагмент диссертационной работы

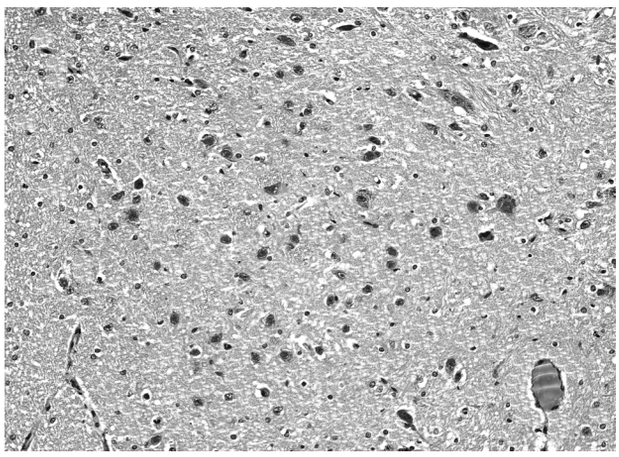


Рис. 1. Группа № 1. Слабая периваскулярная и перицеллюлярная пролиферация клеток глии, слабые дистрофические изменения нейронов
Окр. гем-эоз. ×200

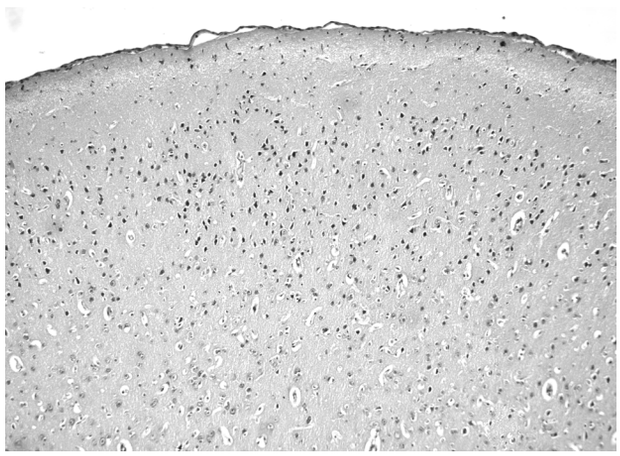


Рис. 2. Группа № 1. Умеренное сужение просвета капилляров, расширение периваскулярных и перицеллюлярных пространств
Окр. гем-эоз. ×100

микроскопической видеосистемы «Quantimet 550IW» фирмы «Leica» Англия, с встроенным пакетом морфометрических программ.

Результаты и обсуждение. При морфологическом изучении препаратов головного мозга и печени белых крыс, получивших ингаляционное воздействие винилхлоридом, установлены изменения, имеющие свои отличительные особенности в различные периоды обследования. Непосредственно после окончания ингаляционных затравок в препаратах головного мозга животных отмечали слабо выраженный перицеллюлярный и ярко выраженный периваскулярный отек, реакция глии была незначительной. Выявлялась дистрофия единичных клеток нервной ткани (клетки Пуркинье, пирамидные нейроны гиппокампа), наиболее значительные нарушения наблюдались в нейронах коры (рис. 1). Однако количественного сокращения нейронов коры не отмечено, структура слоев коры головного мозга была сохранена.

Выявлялись малокровие и сужение просвета сосудов микроциркуляторного русла с расширением периваскулярных пространств вокруг капилляров, артериол (рис. 2), более выраженное у животных при обследовании в отдаленном периоде. Так, диаметр периваскулярных пространств в группе № 1 (240,32±35,29 мкм) был ниже, чем в группе № 2 (522,6±28,61мкм). Вблизи капилляров коры у животных обеих группы обнаружена гипертрофия и пролиферация клеток глии, в единичных капиллярах выявлены гиалиновые микротромбы. В ткани головного мозга выявлялось снижение активности СДГ.

В печени наблюдалась выраженная жировая и зернистая дистрофия гепатоцитов и выход

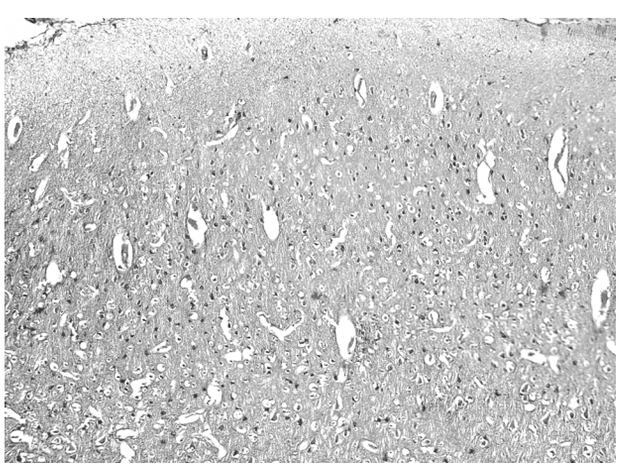


Рис. 3. Группа № 2. Выраженное сужение просвета капилляров, резкое расширение периваскулярных и перицеллюлярных пространств
Окр. гем-эоз. ×100

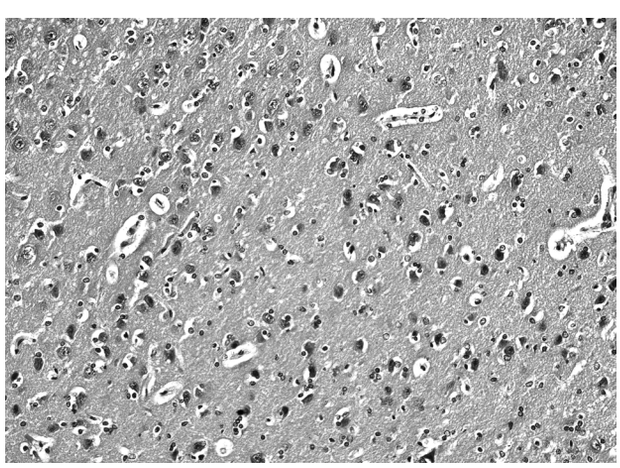


Рис. 4. Группа № 2. Гипертрофия, периваскулярная и перицеллюлярная пролиферация клеток глии, дистрофические изменения нейронов
Окр. гем-эоз. ×200

звездчатых клеток в синусоиды. Изменений в количестве гликогена в ткани печени достоверно не отмечалось.

Гистологический анализ препаратов нервной ткани в отдаленный постконтактный период выявил нарастание морфофункциональных нарушений, которые характеризовались высокой степенью дистрофии нейронов всех слоев коры и области гиппокампа с сокращением их количества (рис. 3). В препаратах нервной ткани имели место апоптозные тельца. Выявлялись значительные периваскулярный отек и вакуолизация клеток глии (рис. 4). В препаратах наблюдался обширный спонгиоз нервной ткани, отсутствовавший при первом сроке обследования. Активность СДГ в нервных клетках также была снижена. В печени выявлялась дистрофия гепатоцитов и незначительный лейкоцитарный инфильтрат. Изменений в количестве гликогена в ткани печени, как и в первый срок обследования, не отмечалось.

В целом морфологические изменения в тканях ЦНС и печени белых крыс при ингаляционном воздействии винилхлоридом в течение постконтактного периода развивались неравномерно. При обследовании в первый срок наиболее значительные изменения выявлены в ткани печени. Образование белковых зерен в цитоплазме гепатоцитов возможно при декомпозиционных процессах липопротеидных комплексов клетки, которые сопровождаются высвобождением гранул белка и липидов и указывают на нарушение функционального состояния печени. Снижение выраженности патологического процесса в печени во втором сроке обследования, свидетельствует о тенденции к восстановлению функциональной активности органа.

Морфофункциональные изменения нервной ткани в отдаленном постконтактном периоде были более выраженными, чем при обследовании сразу после окончания ингаляционного воздействия винилхлоридом. Наблюдалось нарастание признаков дистрофии нейронов, причем, в процесс вовлекались все слои нервных клеток как коры головного мозга, так и гиппокампа. В препаратах нервной ткани выявлялось разрежение структуры слоев нейронов коры головного мозга и пирамидных нейронов гиппокампа с резким сокращением количества нервных клеток. Наличие апоптозных телец дает возможность предположить гибель нейронов как ишемического типа, так и по типу апоптоза. С резким сокращением в отдаленном постконтактном периоде количества нейронов в коре головного мозга и гиппокампе, обусловленном их гибелью, связаны, по-видимому, и выявляемые у животных ухудшение процессов обучаемости и снижение памяти, в том числе и кратковременной, наблюдаемых в отдаленном периоде после воздействия винилхлорида.

Известно, что немаловажное значение в возникновении патологии ЦНС имеет ангиопатия, а поражение сосудов при винилхлоридной болезни носит системный характер [4]. Установлено, что воздействие винилхлорида вызывало развитие в нервной ткани периваскулярного отека, особенно выраженного в отдаленный период. Кроме того, в данный же срок обследования имели место дегенеративные изменения клеток глии. Учитывая, что глиальные клетки являются основной составной частью гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и нарушение их функционирования оказывает влияние на его проницаемость, можно сделать предположение о снижении барьерной функции ГЭБ и усилении его проницаемости в динамике патологического процесса. Следствием этого является нарушение обменных процессов в нервной ткани, косвенным подтверждением которого является изменение окислительно-восстановительных процессов в митохондриях, оцениваемое по снижению активности СДГ, а также обширный спонгиоз, характеризующий дистрофические и гидропические изменения в нервной ткани.

Заключение. Длительное ингаляционное воздействие винилхлорида на белых крыс характеризуется постепенным нарастанием морфофункциональных нарушений в нервной ткани, выраженность которых значительно варьирует в зависимости от срока обследования. Наиболее тяжелые аберрации нервной ткани возникают в отдаленном постконтактном периоде, что свидетельствует о способности данного токсиканта оказывать отсроченное действие на организм.

Список литературы

1. ***Антонюженко В.А.*** *Винилхлоридная болезнь – углеводородный нейротоксикоз. – Горький: Волго-Вятское кн. изд-во, 1980. – 183 с.*

2. ***Вазин А.Н., Плохова Е.И.*** *Динамика содержания адреналиноподобных веществ в крови кроликов при хроническом воздействии паров винилхлорида // Гигиена труда и проф. заболевания, 1969. – № 3. – С. 46-47.*

3. ***Данилов Р.К., Быков В.Л.*** *Руководство по гистологии. – СПб: СпецЛит, 2001. – 496 с.*

4. ***Каляганов П.И.*** *Клиническая характеристика начальных проявлений хронического воздействия винилхлорида // Медицина труда и промышленная экология, 2002. – № 4 – С. 29-328.*

5. ***Колесов В.Г., Мещерягин В.А., Лахман О.Л. и др.*** *Психопатологические проявления отдаленного периода профессиональных нейроинтоксикации // Журнал невропатологии и психиатрии, 2005. – Т. 105. – № 1. – С. 25-29.*

6. ***Коржевский Д.Э.*** *Краткое изложение основ гистологической техники для врачей и лаборантов-гистологов. – СПб.: ООО «Кроф», 2005. – 48 с.*

7. ***Ллойда З., Госсрау Р., Шиблер Т.*** *Гистохимия ферментов, лабораторные методы / Под ред. Н.Т. Райхлина. – М.: Мир, 1982. – 270 с.*

8. ***Соседова Л.М., Капустина Е.А.*** *Влияние ингаляционного воздействия винилхлорида на поведение белых крыс в отдаленный постконтактный период // Токсиколог. вестник, 2008. – № 5. – С. 17-20.*

9. ***Langauer-Lewowicka H., Kyrzbauer Z., Byczkowska W.*** *Vinyl chloride disease-neurological disturbances // International archives of occupational and environmental health, 1983. – V. 52. – № 2. – P. 151-157.*

10. ***Langauer-Lewowicka H.*** *Chronic toxic encephalopathies // Med. Pr., 1982. – V. 33. – № 1. – P. 113-117.*

11. ***Simonsen L., Johnsen H., Lund S. et al.*** *Methodological approach to the evaluation of neurotoxicity data and the classification of neurotoxic chemicals // Scand. J. Work Environ. Health, 1994, – V. 20, – № 1, – P. 1-12.*

Материал поступил в редакцию 11.12.08.

L.M. Sosedova[1], S.S. Golubev[2], Ye.A. Titov[1]

PATHOMORPHOLOGIC ASPECTS OF VINYL CHLORIDE IMPACT ON THE BRAIN TISSUE OF WHITE RATS IN A POST-CONTACT PERIOD

[1]Angarsk Branch- Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Scientific Center for Medical Ecology of the East-Siberian Scientific Center, Russian Academy of Medical Sciences
[2]Regional Diagnostic Center, Irkutsk

Pathomorphologic problems of toxic exposure of the central nervous system to vinyl chloride are examined.Were shown morphologic disturbances in the brain tissue of white rats exposed durably to vinyl chloride, the disturbances developing just after the exposure and during a delayed post-contact period.

УДК 615.322.099.074

С.И. Гусева[1]*, М.Н. Макарова[1,2], А.Н. Шиков[1,2], О.Н. Пожарицкая[2], О.И. Авдеева[1], И.В. Карачинская[1], Г.И. Дьячук[1]

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА DRF (DOSE RANGE FINDING) ДЛЯ ОЦЕНКИ ОБЩЕЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

[1]ГОУВПО Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова
[2]Санкт-Петербургский институт фармации

Целью работы явилась оценка пределов биологического эффекта препарата на основе экстрактов шалфея лекарственного и эхинацеи узколистной с использованием метода DRF (dose range finding) и выявление доз, оказывающих биологическое влияние на организм аутбредных крыс. Проводилось измерение массы тела животных, а также оценка их поведенческих реакций и зоосоциального поведения. Установлено, что максимально возможная для введения доза препарата не оказывает статистически достоверного изменения массы тела и поведенческих реакций крыс.

Ключевые слова: *dose range finding, аутбредные крысы, препарат SEA-TH, биологическое действие, поведенческие реакции.*

Введение. В настоящее время на фармацевтическом рынке представлено множество препаратов растительного происхождения. Вычисление для них летальных доз DL_{16}, DL_{50}, DL_{84}, как правило, невозможно в силу их низкой токсичности [1, 2]. В зарубежной практике для оценки токсичности подобных препаратов используется подход DRF (dose range finding) [3, 4]. Он основан на определении пределов биологического эффекта препарата и выявлении доз, оказы-

* фрагмент диссертационной работы

вающих биологическое влияние на организм лабораторных животных. Биологическое влияние препарата на организм лабораторных животных оценивается посредством измерения отклонения в массе тела, а также по изменению органов и физиологических систем животного, его поведенческих реакций.

Целью настоящего исследования явилось определение пороговых доз лекарственного препарата на основе экстрактов шалфея лекарственного и эхинацеи узколистной, оказывающих биологическое действие на организм крыс.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служил оригинальный лекарственный препарат SEA-TH в форме таблеток для рассасывания – новое потенциальное средство для лечения заболеваний верхних дыхательных путей. В состав препарата входят: экстракт шалфея лекарственного 12,5 мг, масло шалфея лекарственного 2,5 мг, экстракт эхинацеи узколистной 50,0 мг, аскорбиновая кислота 50,0 мг и вспомогательные вещества.

Работа проведена в соответствии с «Правилами доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)» [5] и «Методическими указаниями по изучению общетоксического действия фармакологических веществ» [6].

В эксперименте использовали аутбредных крыс, 30 самцов и 30 самок, вес к началу исследования которых составлял 180–250 г, возраст – 3–4 месяца. Животные получены из питомника лабораторных животных РАМН «Рапполово».

Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с правилами, утвержденными МЗ СССР 06.07.73 г., по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) и в соответствии с Директивой Совета ЕС от 24.11.1986 г. по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС). Животных кормили комбикормом ПК-120-1, приготовленным по ГОСТ Р 50258-92 в соответствии с нормами, утвержденными приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г. Животные получали воду, соответствующую ГОСТ «Вода питьевая» 2874-82. Клетки с животными были помещены в отдельные комнаты. Световой режим: 12 ч – свет, 12 ч – темнота. Температуру воздуха поддерживали в пределах 18–26 °С, относительную влажность – 30–70 %. Температуру и влажность воздуха регистрировали ежедневно.

Эксперименты проводили согласно протоколу испытаний, который был одобрен комитетом по этике Санкт-Петербургского института фармации. Для испытаний выбран внутрижелудочный способ введения препарата крысам как наиболее близкий к способу введения в организм человека в клинической практике. Дозы для введения готовили путем разведения препарата в 1 % крахмальном геле. Введение производили ежедневно в течение 10 дней. Использовали экспериментальные дозы, превышающие терапевтическую дозу (ТД) в 10, 15, 20, 25 и 30 раз (6, 9, 12, 15, 18 г/кг соответственно). В качестве контроля использовали 1 % крахмальный гель. Животные рандомизировано были разбиты на 6 групп по 5 самцов и 5 самок в каждой. Для достижения максимальных доз (15 и 18 г/кг) применяли двукратное введение препарата с интервалом не менее 30 мин, при этом вводимый объем не превышал допустимых норм и составлял 5 мл на особь весом 200 г.

Период наблюдения составил 10 суток. На протяжении этого времени осуществляли ежедневный осмотр животных в клетке содержания, на руках и на открытой площадке, оценивали их общее состояние. Каждый день исследования проводили взвешивание животных, поскольку этот показатель является наиболее чувствительным при наличии биологического эффекта препарата.

Физиологические реакции крыс оценивали в тесте «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» с учетом ориентировочно-исследовательского эмоционального, стереотипного и двигательного компонентов по поведенческому атласу для грызунов [7]. Тесты проводили дважды: до введения и после 10-дневного введения препарата.

Эвтаназию осуществляли на 11-й день исследования с помощью CO_2-камеры. Животные находились там до полной потери сознания, затем животных извлекали, вскрывали грудную полость, и осуществляли полное стерильное обескровливание шприцем из полостей сердца. Животные были подвергнуты полной некропсии с оценкой внешней поверхности тела, физиологических проходов, черепной, грудной, брюшной полостей и их содержимого.

Результаты и обсуждение. Гибель экспериментальных животных при многократном внутрижелудочном введении максимальных доз препарата SEA-TH отсутствовала.

При сравнении динамики массы тела групп крыс-самцов и самок, получавших препарат SEA-TH внутрижелудочно, с контрольной группой статистически значимых различий не выявлено (табл.).

На 10-й день исследования проводили наблюдения влияния препарата на общее состояние и поведенческие реакции крыс, учитывая, что этот день является наивысшей точкой интоксикации препаратом в условиях эксперимента. Наблюдение проводили через 2 ч после введения препарата.

Животные опытных групп выглядели и вели себя также, как и животные контрольной группы. Низкая реакция на взятие в руки присутствовала у двух самок из 2-ой и 6-ой групп, они проявляли беспокойство. Вокализация у всех отсутствовала, веки были широко открыты. Со стороны глаз, ушей, носа не было отмечено никаких изменений по сравнению с контрольными животными. Дыхание становилось поверхностным у крыс 6-ой группы, но только в течение 20–30 мин после введения препарата. Далее дыхание было нормальным у всех экспериментальных животных. Слезотечения и слюнотечения не наблюдали. Внешний вид шерсти у всех животных был нормальным. Тонус мускулатуры у всех крыс был умеренным, конечности в норме.

Наблюдения проводили также на открытой площадке. Каждое животное помещали на открытое пространство площадью около 1 м^2 и наблюдали за его поведением в течение приблизительно 2-х мин. Все животные нормальной конституции, двигательная активность была нормальной. Диапазон движений наблюдали типичный: просеивание, поднимание, ходьба. Отклонений в походке замечено не было. Поведение было стандартным. Кровотечений у животных не наблюдали, все выделения были в норме.

Интегральным отражением функционально-метаболических изменений, возникающих после перенесенной интоксикации, является зоосоциальное поведение животных. При тестировании в «открытом поле» и «приподнятом крестообразном лабиринте» животные опытных и контрольных групп демонстрировали преимущественно уравновешенный тип поведения, с умеренной локомоторной и поисковой активностью без проявления признаков тревожности. Статистически достоверных различий между опытными и контрольными группами не выявлено.

Клиническая картина интоксикации при введении максимальных доз препарата SEA-TH (18 г/кг) была выражена неярко, наблюдалась вздыбленность шести, незначительное угнетение общего состояния, поверхностное дыхание и гиподинамия. Данные проявления интоксикации исчезали в течение 2-х ч после момента введения препарата. Различий в течение интоксикации между самцами и самками не отмечалось.

Данные некропсии при макроскопическом исследовании экспериментальных животных также не отразили различий в состоянии внут-

Таблица

Влияние многократного внутрижелудочного введения препарата SEA-TH на массу тела крыс, (увеличение массы в % от исходного)

День	Пол животного	Доза препарата, г/кг					
		0	6	9	12	15	18
1	m (n = 5) f (n = 5)	+1,13±0,12 +1,03±0,10	+1,06±0,11 +0,96±0,09	+1,10±0,13 +0,98±0,10	+1,07±0,11 +1,11±0,12	+1,12±0,08 +1,08±0,09	+1,12±0,09 +1,10±0,11
2	m (n = 5) f (n = 5)	+0,44±0,02 +0,17±0,01	+0,45±0,02 +0,16±0,01	+0,49±0,02 +0,19±0,01	+0,47±0,02 +0,18±0,01	+0,47±0,02 +0,19±0,01	+0,48±0,02 +0,18±0,01
3	m (n = 5) f (n = 5)	+1,41±0,11 +1,26±0,09	+1,47±0,12 +1,28±0,10	+1,39±0,11 +1,37±0,11	+1,42±0,10 +1,34±0,12	+1,50±0,14 +1,39±0,13	+1,43±0,10 +1,32±0,12
4	m (n = 5) f (n = 5)	+1,77±0,14 +1,51±0,13	+1,82±0,11 +1,47±0,12	+1,69±0,15 +1,53±0,14	+1,73±0,14 +1,64±0,16	+1,88±0,17 +1,68±0,14	+1,78±0,13 +1,60±0,15
5	m (n = 5) f (n = 5)	+2,55±0,21 +2,12±0,11	+2,48±0,18 +2,14±0,16	+2,51±0,19 +2,17±0,15	+2,52±0,18 +2,29±0,18	+2,57±0,20 +2,31±0,15	+2,52±0,21 +2,22±0,14
6	m (n = 5) f (n = 5)	+3,96±0,25 +3,81±0,20	+3,98±0,22 +3,83±0,17	+4,07±0,20 +3,77±0,19	+3,93±0,19 +4,03±0,22	+4,05±0,21 +4,01±0,21	+4,04±0,20 +3,91±0,18
7	m (n = 5) f (n = 5)	+4,96±0,26 +4,71±0,23	+5,01±0,25 +4,57±0,21	+5,06±0,23 +4,48±0,19	+4,98±0,24 +4,83±0,25	+5,11±0,26 +4,68±0,22	+4,99±0,23 +4,63±0,21
8	m (n = 5) f (n = 5)	+6,17±0,29 +5,67±0,26	+6,09±0,28 +5,49±0,20	+6,10±0,30 +5,55±0,24	+6,22±0,29 +5,72±0,22	+6,19±0,31 +5,79±0,27	+6,02±0,27 +5,62±0,22
9	m (n = 5) f (n = 5)	+7,01±0,31 +6,11±0,21	+6,92±0,29 +6,22±0,23	+7,04±0,28 +6,25±0,18	+6,99±0,30 +6,19±0,22	+7,00±0,33 +6,28±0,23	+6,98±0,29 +6,18±0,20
10	m (n = 5) f (n = 5)	+8,12±0,35 +6,70±0,23	+8,09±0,32 +6,67±0,20	+8,11±0,31 +6,78±0,24	+8,19±0,36 +6,81±0,28	+8,01±0,35 +6,77±0,25	+8,21±0,37 +6,73±0,21

ренних органов при применении исследуемого препарата и контроля.

Токсичность препаратов шалфея связывают с наличием в нем эфирного масла, основными компонентами которого являются терпеноиды (α- и β-туйоны, пинен, линалоол, борнеол, камфора и др.). Согласно различным авторам, исследовавшим токсичность эфирного масла *Salvia dalmatica* и его компонентов, DL_{50} при приеме внутрь крысам составляла 2,6 г/кг [8], интраперитонеально – 3,2 г/кг [9], судорожный эффект вызывался в дозе 0,5 г/кг. Основной компонент масла туйон показал более высокую токсичность – он вызывал судороги у крыс в дозе 0,2 г/кг при введении интраперитонеально. Максимально возможная для введения доза (20хТД) препарата SEA-TH соответствует 25,7 мг/кг эфирного масла и 7,7 мг/кг туйона соответственно, что в 25 раз меньше судорожной и более, чем в 100 раз меньше летальной дозы, полученной из данных литературы.

Водный экстракт *Salvia scutellarioides* при пероральном введении в дозе 2 г/кг у мышей не вызвал смерти, а также изменения поведенческих реакций и других физиологических процессов [10].

При пероральном и внутривенном введении сока Эхинацеи пурпурной крысам и мышам выявлено отсутствие его токсичности при 4 недельном приеме дозы, соответствующей многократной терапевтической дозе у человека. DL_{50} при внутривенном введении сока Э. пурпурной составило 50 мл/кг [11]. DL_{50} полисахаридов, выделенных из Э. пурпурной, у мышей составило 2500 мг/кг [12]. Результаты исследования подострой токсичности комплекса полисахаридов в течение 28 дней при внутривенном введении крысам выявило отсутствие токсического эффекта в дозе, превышающей терапевтическую дозу для человека в 144 раза. Тот же результат отсутствия токсического эффекта был получен при исследовании хронической токсичности в течение 3 месяцев на собаках породы бигль в дозе, превышающей терапевтическую для человека в 190 раз [13].

Полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют об отсутствии токсичности препарата SEA-TH и коррелируют с данным литературы о низкой токсичности активных компонентов препарата (экстракта и эфирного масла шалфея лекарственного, экстракта эхинацеи узколистной).

Выводы. 1. Апробирован метод DRF для оценки общей токсичности нового растительного лекарственного препарата.

2. Установлено, что максимально возможная для введения внутрижелудочно доза (18 г/кг) не оказывала токсического действия на организм крысы в течение 10 дней эксперимента.

3. Полученные данные соответствуют литературным данным о низкой токсичности растительных компонентов препарата: шалфея и эхинацеи.

Список литературы

1. ***Гуськова Т.А.*** *Требования к проведению доклинических токсикологических испытаний ЛС в России // Фармацевтический вестник, 2005. – № 24 (387).*

2. ***Тутельян В.А., Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г.*** *Безопасность и эффективность биологически активных веществ растительного происхождения. – Новосибирск: «Экор-книга», 2007. – 316 с.*

3. *Guideline for industry. Toxicokinetics: The assessment of systemic exposure in toxicity studies // ICH-S3A. 03.1995.*

4. *Guidance for industry. M4S: The CTD – Safety. U.S. // Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. 08.2001.*

5. *«Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)». РД 64-126-91. – М., 1992.*

6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.*

7. ***Пошивалов В.П.*** *Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах. – М.: Деп. В ВИНИТИ, 1978. – № 3164-78.*

8. ***Opdyke D.L.*** *Sage oil Dalmatian // Food Cosmet. Toxicol., 1974. – V. 12. – P. 987-988.*

9. ***Millet Y., Tognetti P., Steinmetz M. et al.*** *Study of the toxicity of essencial vegetable oils: hyssop oil and sage oil // Med. Leg Toxicol., 1980. – V. 23. – P. 9-21.*

10. ***Ramirez J., Palacios M., Tamayo O. et al.*** *Acute and subacute toxicity of Salvia scutellaioides in mice and rats // J. of Ethnopharmacol., 2007. – V. 109. – P. 348-353.*

11. ***Mengs U., Clare C., Poiley J.*** *Toxicity of Echinacea Purpurea. Acute, Subacute and Genotoxicity Studies // Arzneimittel-Forsch. Drug Res., 1991. – V. 41–42. – P. 1076-1081.*

12. ***Lenk M.*** *Acute toxicity if various polysaccharides from Echinacea purpurea in the mouse // Zeitschrift Fur Phytotherapie, 1989. – V. 10. – P. 49-52.*

13. ***Emmendorffer A., Wagner H., Lohmann-Matthes M.*** *Immunologically active polysaccharides from Echinacea purpurea plant and cell cultures. In: H. Wagner (ed) Immunomodulatory agents from plants // Birkhauser Verlag, Basel, 1998. – P. 89-104.*

Переработанный экз. статьи поступил в редакцию 10.06.09.

S.I. Guseva[1], M.N. Makarova[1,2], A.N. Shikov[1,2], O.N. Pozharitskaya[2], O.I. Avdeyeva[1], I.V. Karachinskaya[1], G.I. Dyachuk[1]

USE OF DRF (DOSE RANGE FINDING) METHOD TO ASSESS GENERAL TOXICITY OF HERBAL EXTRACTS-BASED PREPARATIONS

[1]I.I. Mechnikov State Medical Academy of Saint-Petersburg
[2]Saint-Petersburg Institute of Pharmacy

DRF method was used to evaluate general toxicity of tablets with extracts of *Salvia officinalis* and *Echinacea angustifolia*. The aim of the experiment was to assess biological effect posed by the preparation and to set doses having a biological impact on the organism of outbred rats. The body weight, behavioral reactions and zoosocial behavior of rats were studied. It was established that the maximum possible dose of the preparation to be uptaken does not induce statistically certain changes in the body weight and behavioral responses of rats.

УДК 504.45.054-034+591.132.05+597

В.В. Кузьмина

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ (ЦИНК, МЕДЬ) НА ДИНАМИКУ АКТИВНОСТИ ПРОТЕИНАЗ ХИМУСА КИШЕЧНИКА РЫБ ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ В ВОДЕ

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

Показано, что цинк и медь влияют на активность, а также на динамику активности протеиназ при экспозиции химуса рыб (плотва, окунь) в воде. Выявлены видовые различия в чувствительности трипсиноподобных (казеинлитических) и химотрипсиноподобных (гемоглобинлитических) протеиназ к исследованным металлам. Поскольку изначально ионы цинка подавляют активность протеиназ, а в процессе экспозиции химуса рыб в воде, содержащей эти ионы, уровень ферментативной активности в ряде случаев увеличивается в большей степени, чем в контроле, высказано предположение о том, что они индуцируют синтез протеиназ энтеральной микробиоты рыб.

Ключевые слова: *рыбы, активность протеиназ, химус, экспозиция в воде, цинк, медь.*

Введение. В связи с возросшим антропогенным воздействием на водные экосистемы в последние годы большое внимание уделяется изучению влияния тяжелых металлов на различные процессы жизнедеятельности гидробионтов. Показано, что цинк и медь, будучи эссенциальными металлами, достигая определенных концентраций, становятся токсичными для рыб [7]. В частности, в присутствии ионов этих металлов значительно снижается активность протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб [5, 6, 8]. Действие тяжелых металлов на активность ферментов химуса исследовано значительно слабее. Вместе с тем, известно, что в составе химуса функционируют различные по происхождению гидролазы: панкреатические и собственно кишечные ферменты консумента, а также ферменты жертвы и энтеральной микробиоты [3]. При этом ферменты, синтезируемые микробиотой, не только участвуют в процессах симбионтного пищеварения [3, 9, 10], но и могут выполнять другие важные функции, в частности трансформационную. Ранее при исследовании трансформационной функции основное внимание уделялось закономерностям функционирования ферментов в пищеварительном тракте рыб [2]. Однако нами было обнаружено, что активность ферментов химуса, независимо от вида рыб, может не только сохраняться в течение длительного времени при их экспозиции в воде, но и значительно возрастать (В.В. Кузьмина, в печати). Последнее дало основание считать, что попадающие в воду гидролазы пищеварительного тракта рыб могут играть важную роль в деструкции органических веществ, находящихся в водоемах. Влияние антропогенных факторов, в частности тяжелых металлов, на активность ферментов и ее динамику при экспозиции содержимого кишечника рыб в воде ранее не исследовалось.

Цель работы – изучение влияния ионов цинка и меди на активность протеиназ, обеспечивающих гидролиз белковых компонентов пищи в полости кишечника у двух видов рыб, различающихся по типу питания, и на динамику ферментативной активности при длительной экспозиции содержимого дистального отдела кишечника в воде.

Материал и методы исследования. Работа проведена летом 2008 г. Объекты исследования: по-

ловозрелые особи плотвы *Rutilus rutilus (L.)*, масса 252±48 г и окуня *Perca fluviatilis L.*, масса 235±38 г, отловленные в Рыбинском водохранилище. После поимки рыб в течение 1–2 ч доставляли в лабораторию и вскрывали брюшную полость. Кишечник помещали на ледяную баню, очищали от жира, разрезали вдоль и изымали химус дистального отдела кишечника, близкий по составу таковому экскрементов. Материал от 5 особей каждого вида (без учета пола) суммировали и тщательно перемешивали. Для того, чтобы создать сопоставимые условия функционирования ферментов в воде, навески химуса гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с небольшим количеством раствора Рингера для холоднокровных животных (109 мМ NaCl, 1,9 мМ KCl, 1,1 мМ $CaCl_2$, 1,2 мМ $NaHCO_3$, pH 7,4) при температуре 0–4°С. Затем разведение гомогената доводили раствором Рингера до соотношения 1:9. После этого 5 мл тщательно перемешанного гомогената приливали к 45 мл водопроводной нехлорированной воды (pH 7,0), в результате чего разведение увеличивалось до 1:99. Указанный раствор служил в качестве контроля. К опытным пробам, приготовленным в близких условиях (5 мл гомогената и 40 мл воды), для получения эквимолярных растворов (1 мкМ, или 29 и 25 мг/л) добавляли в расчете на содержание ионов металла предварительно растворенные в 5 мл воды соли металлов (сернокислый цинк $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ или сернокислую медь $CuSO_4 \cdot 5H_2O$). Опыты проводили при температуре 20±2°С. Определяли активность протеиназ по казеину (в исходном гомогенате преимущественно активность трипсина, К.Ф. 3.4.21.4) и по гемоглобину (в исходном гомогенате преимущественно активность химотрипсина, К.Ф. 3.4.21.1). Казеин- и гемоглобинлитическую активность протеиназ (АПК и АПГ соответственно) оценивали по приросту тирозина методом Ансона [11] в некоторой модификации. В качестве субстратов использовали 1% растворы казеина и гемоглобина, приготовленные на том же растворе Рингера. Перед взятием гомогената для определения протеолитической активности содержимое сосудов тщательно перемешивали. Первое определение ферментативной активности (нулевая точка) проводили через 10 мин после помещения химуса в воду, затем – через сутки. Время инкубации ферментативно активных препаратов и субстрата – 30 мин. Интенсивность окраски оценивали при помощи фотоколориметра КФК-2 (длина волны 587 нм). Активность ферментов в каждой временной точке определяли в шести повторностях с учетом фона (изначальное количество тирозина в пробе).

Результаты обработаны статистически при помощи программы Statistica 6.0 и приведены в виде средней±SE. Достоверность различий оценивали при помощи критерия Вилкоксона для малых выборок при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. В начале экспозиции (нулевая точка) величина АПК химуса плотвы в контроле в 1,5 раза выше по сравнению с таковой АПГ (табл. 1). В присутствии ионов цинка и особенно меди уровень АПК и АПГ в нулевой точке достоверно уменьшается по сравнению с таковой контроля. Динамика активности исследованных ферментов в отсутствии и в присутствии ионов металлов различна. Значения АПК в контроле достоверно увеличиваются через сутки и, несмотря на последующее снижение, остаются более высокими по сравнению с нулевой точкой до конца опыта. В присутствии ионов цинка наблюдается последовательное увеличение ферментативной активности с максимумом на 3 сут, в присутствии ионов меди – достоверное снижение, особенно ярко выраженное на 4 сут.

Значения АПГ в контроле достоверно возрастают на 3 сут. и резко снижаются на 4 сут, оказываясь на уровне контроля. В присутствии ионов металлов максимум АПГ отмечен на 2 сут, причем в присутствии ионов цинка активность увеличивается почти в 3 раза. При этом в при-

Таблица 1

Влияние ионов цинка и меди на активность протеиназ химуса плотвы, функционирующих в воде

Время, ч	Казеинлитическая активность			Гемоглобинлитическая активность		
	контроль	цинк	медь	контроль	цинк	медь
0	2,87±0,02 / 100	2,42±0,03 / 100	2,10±0,04 / 100	1,97±0,04 / 100	1,52±0,03 / 100	1,29±0,03 / 100
24	4,92±0,04 / 171,3	3,09±0,06 / 127,7	0,86±0,03 / 41,2	1,84±0,04 / 93,2	4,48±0,05 / 294,5	1,66±0,02 / 128,8
48	3,42±0,03 / 118,7	3,45±0,03 / 142,3	1,68±0,02 / 79,8	1,73±0,02 / 87,3	2,13±0,04 / 140,2	0,87±0,03 / 67,7
72	3,05±0,04 / 106,0	4,50±0,03 / 185,8	1,22±0,03 / 58,2	4,08±0,11 / 207,0	2,38±0, 02 / 158,8	1,27±0,03 / 99,0
96	3,32±0,05 / 115,5	2,24±0,02 / 92,5	0,38±0,02 / 17,7	2,08±0,03 / 108,0	0,86±0,03 / 56,5	1,53±0,04 / 118,7

Примечание. Здесь и в табл. 2: над чертой – ферментативная активность, мкмоль/(г·мин), под чертой – то же, % контроля, принятого за 100

Таблица 2

Влияние ионов цинка и меди на активность протеиназ химуса окуня, функционирующих в воде

Время, ч	Казеинлитическая активность			Гемоглобинлитическая активность		
	контроль	цинк	медь	контроль	цинк	медь
0	3,73±0,03 / 100	2,63±0,02 / 100	2,21±0,04 / 100	1,75±0,04 / 100	1,47±0,03 / 100	1,29±0,02 / 100
24	6,84±0,06 / 183,5	3,69±0,04 / 140,3	1,51±0,02 / 68,5	1,14±0,04 / 65,5	2,56±0,02 / 174,3	0,47±0,02 / 36,2
48	5,99±0,05 / 160,7	4,25±0,03 / 161,7	0,66±0,02 / 29,7	2,63±0,05 / 151,7	2,85±0, 02 / 193,8	0,79±0,02 / 61,0
72	3,83±0,03 / 104,2	4,76±0,03 / 181,0	1,04±0,02 / 47,2	0,82±0,05 / 47,0	3,10±0,01 / 210,8	1,02±0,02 / 78,7
96	5,10±0,05 / 137,0	1,07±0,04 / 74,7	0,44±0,03 / 19,7	1,08±0,05 / 62,3	2,57±0,02 / 175,0	0,68±0,02 / 52,7

сутствии ионов цинка активность на протяжении 3 сут. остается достоверно более высокой по сравнению с нулевой точкой. В присутствии меди величины АПГ на 2 сут. достоверно снижаются, а конце опыта вновь возрастают.

Величина АПК химуса окуня в начале экспозиции в контроле в 2,1 раза выше по сравнению с таковой АПГ (табл. 2). В присутствии ионов цинка и меди активность ферментов, как и в случае плотвы, достоверно уменьшается по сравнению с нулевой точкой. В контроле величина АПК через сутки увеличивается почти в 2 раза, затем снижается, достигая на 3 сут. значений, близких к контролю, а на 4 сут. снова повышается. В присутствии ионов цинка уровень АПК достоверно и последовательно увеличивается в течение 3 сут., затем резко снижается. Динамика АПК в присутствии ионов меди имеет иной характер – наблюдается значительное снижение показателя с минимумом в конце опыта.

Величина АПГ в контроле изменяется зигзагообразно – снижается на 2 и 4 сут., но увеличивается на 3 сут. На 5 сут. АПГ, увеличиваясь по сравнению с предыдущим сроком, оказывается более низкой по сравнению с контролем. В присутствии ионов цинка динамика АПГ исключительно близка таковой АПК, но эффекты выражены ярче. В присутствии ионов меди АПГ резко снижается через сутки, затем повышается, не достигая уровня нулевой точки, а на 4 сут. снова снижается.

Прежде всего, следует отметить, что изначально ионы цинка и меди ингибируют активность как казеинлитических, так и гемоглобинлитических протеиназ химуса у обоих видов рыб. Эти результаты хорошо согласуются с данными о влиянии ионов этих металлов на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб [5, 6, 8]. Также подтверждены результаты, свидетельствующие о том, что продолжительная экспозиция химуса в воде может приводить к значительному увеличению активности протеиназ. Поскольку гомогенат химуса содержит в основном деструктурированный материал, полученные данные позволяют предполагать, что увеличение протеолитической активности в ходе эксперимента обусловлено деятельностью микроорганизмов, обитающих в кишечнике рыб и продуцирующих протеиназы. Ранее нами в кишечнике плотвы и окуня были идентифицированы микроорганизмы *рр. Pseudomonas, Bacillus,* а также кокковые формы, коринебактерии и микромицеты [4]. Кроме того, в кишечнике пресноводных рыб присутствуют микроорганизмы, принадлежащие к *р.р. Aeromonas, Micrococcus, Bacterium, Pseudobacterium, Azotobacter, Sarcina*. Также могут встречаться факультативные анаэробы, принадлежащие к *р. Lactobacillus*, а в загрязненных водоемах и бактерии *р. Vibrio* [9, 10, 12, 13]. Предположение о важной роли энтеральной микробиоты в увеличении активности протеиназ при экспозиции химуса в воде подтверждает разная динамика активности протеиназ в средах, различающихся по содержанию тяжелых металлов, а также разная степень влияния на нее ионов цинка и меди. Известно, что микроорганизмы продуцируют металлосодержащие протеиназы [4, 9, 10]. При этом ферменты некоторых бактерий, принадлежащих к *р. Pseudomonas* и *р. Bacillus* активируются ионами цинка. К ним относятся *Pseudomonas aeruginosa*, продуцирующие нейтральную и щелочную протеиназы, а также эластазу, *Bacillus subtilis*, синтезирующие щелочные протеиназы, а также *Clostridium hystolyticus* и *Bacillus thermoteoleticus*, продуцирующие соответственно коллагеназу и термолизин. Если ферменты, вырабатываемые названными выше бактериями, обеспечивают начальные этапы гидролиза белка, то *Escherichia coli* синтезирует цинк-зависимые дипептидазы, реализующие заключительные стадии гидролиза белка [3, 4, 9, 10, 13]. Это обстоятельство, по всей вероятности, и объясняет увеличение активности протеиназ при экспозиции химуса в воде, содержащей ионы цинка.

Полученные результаты позволяют предположить, что в процессе экспозиции химуса в воде

численность микроорганизмов циклически увеличивается. При этом изначальный эффект ингибирования ферментов в присутствии ионов металлов, обусловленный снижением активности протеиназ, синтезируемых пищеварительной системой рыб, сменяется стадией, характеризующейся ростом численности микроорганизмов и, как следствие, увеличением активности протеиназ. Видовые различия динамики активности протеиназ химуса под влиянием ионов металлов могут быть связаны с разным видовым составом энтеральной микробиоты. Известно, что состав и количество микроорганизмов, попадающих в пищеварительный тракт рыб с водой и пищей на разных этапах онтогенеза, определяются не только типом и интенсивностью питания, но также составом пищи и местом питания рыб [3, 4]. В заключение следует отметить, что в связи относительно небольшой глубиной большинства пресноводных водоемов протеиназы, попадающие в воду в составе экскрементов рыб, могут эффективно функционировать как в толще, так и в придонных слоях воды. Наличие ионов цинка может увеличивать, а ионов меди – подавлять их вклад в деструкцию органического вещества.

Заключение. Активность протеиназ химуса плотвы и окуня при его экспонировании в воде значительно меняется во времени. В присутствии ионов цинка активность казеинлитических протеиназ химуса обоих видов рыб в течение экспозиции увеличивается с максимумом на третьи сутки. В присутствии ионов меди изменения ферментативной активности химуса у плотвы и окуня носят колебательный характер, уменьшаясь в ходе экспозиции. Активность гемоглобинлитических протеиназ химуса у обоих видов рыб в присутствии ионов цинка в течение экспозиции колеблется зигзагообразно. В присутствии ионов меди ферментативная активность химуса у плотвы в ряде случаев превышает изначальный уровень, у окуня доминирует ингибирующий эффект.

Список литературы

1. ***Агатова А.Н., Лапина Н.М.*** *Ферментативные процессы трансформации органического вещества и регенерации биогенных элементов в экосистеме Белого моря // Океанология, 2004. – Т. 44. – № 5. – С. 697-708.*

2. ***Кузьмина В.В.*** *Трофическая, защитная и трансформационная функции пищеварительной системы рыб // Вопр. ихтиологии, 1999. – Т. 39. – № 1. – С. 69-77.*

3. ***Кузьмина В.В.*** *Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб. – М.: Наука, 2005. – 300 с.*

4. ***Кузьмина В.В., Скворцова Е.Г.*** *Микробиота желудочно-кишечного тракта и ее роль в процессах пищеварения у рыб // Успехи совр. биол, 2002. – Т. 122. – № 6. – С. 569.*

5. ***Кузьмина В.В., Ушакова Н.В.*** *Влияние температуры, pH и тяжелых металлов (медь, цинк) на активность протеиназ слизистой оболочки пищеварительного тракта типичных и факультативных ихтиофагов // Вопр. ихтиологии, 2007. – Т. 47. – № 4. – С. 566-573.*

6. ***Кузьмина В.В., Ушакова Н.В.*** *Влияние температуры, pH и тяжелых металлов (медь, цинк) на активность протеиназ слизистой оболочки пищеварительного тракта рыб бенто- и планктофагов // Биол. внутренних вод, 2007. – Т. 47. – № 4.*

7. ***Кузьмина В.В., Ушакова Н.В.*** *Процесс экзотрофии у рыб. Влияние тяжелых металлов (Zn, Cu) // Журн. эволюц. биохим. физиол., 2008. – Т. 44. – № 4. – С. 365-372.*

8. ***Кузьмина В.В., Шишин М.М., Корюкаева Н.В и др.*** *Влияние цинка и меди на активность протеиназ пищеварительного тракта у ряда видов пресноводных костистых рыб // Биол. внутренних вод, 2005. – № 4. – С. 102—109.*

9. ***Лубянскене В., Вирбицкас Ю., Янкявичус К. и др.*** *Облигатный симбиоз микрофлоры пищеварительного тракта и организма. – Вильнюс: Москлас, 1989. – 192 с.*

10. ***Шивокене Я.*** *Симбионтное пищеварение у гидробионтов и насекомых. – Вильнюс: Москлас, 1989. – 276 с.*

11. ***Anson M.*** *The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with haemoglobin // J. Gen. Phys., 1938. – V. 22. – P. 79-83.*

12. ***Cahill M.*** *Bacterial flora of fishes: a review // Microbial Ecology, 1990. – V. 19. – P. 21-41.*

13. ***Clements K.D.*** *Fermentation and gastrointestinal microorganisms in fishes // Gastrointestinal microbiology. V. 1. – New York, 1997. – P. 156-198.*

Материал поступил в редакцию 28.04.09.

V.V. Kuzmina

INFLUENCE OF HEAVY METALS (ZINC, COPPER) ON THE ACTIVITY DYNAMICS OF THE CHYME PROTEINASES IN THE FISH INTESTINE AT EXPOSURE IN WATER

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

It was shown that zinc and copper affect the activity and activity dynamics of proteinases at exposure of the fish (roach and perch) chime in water. Species differences were revealed in sensitivity of trypsinlike (caseinlytic), and chymetrypsinlike (hemoglobinelytic) proteinases to the metals under investigation. As primordially zinc ions suppresses the proteinases activity and in the course of exposure of fish chyme in water containing those ions the level of enzymatic activity increases in a number of cases to a greater extent than in the control group, a suggestion was made that they induce the synthesis of proteinases in fish enteral microbiota.

СЪЕЗДЫ, КОНФЕРЕНЦИИ, СОВЕЩАНИЯ

УДК 54(063)

VII ЗАСЕДАНИЕ СЛОВЕНСКО-РОССИЙСКОЙ МЕЖПРАВИТЕЛЬСТВЕННОЙ КОМИССИИ ПО ТОРГОВО-ЭКОНОМИЧЕСКОМУ И НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОМУ СОТРУДНИЧЕСТВУ 21–22 мая 2009 г., Любляна (Словения)

21–22 мая 2009 г. в Любляне (Словения) состоялось VII заседание Межправительственной Российско-Словенской комиссии по торгово-экономическому и научно-техническому сотрудничеству (далее – Комиссия).

Российскую делегацию возглавлял Председатель Российской части Комиссии И.О. Щёголев, министр связи и массовых коммуникаций Российской Федерации.

Словенскую делегацию возглавлял Председатель Словенской части Комиссии д-р М. Лаховник, министр экономики Республики Словении.

21 мая 2009 г. работа Комиссии осуществлялась в рамках рабочих групп. Заседание рабочей группы по химической безопасности проходило в Бюро по регулированию химических веществ Министерства здравоохранения Словении. От словенской стороны на встрече присутствовали: директор Бюро по регулированию химических веществ Марта Цирай, руководители департаментов; с российской – руководитель информационно-аналитического отдела ФГУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора Х.Х. Хамидулина. На встрече обсуждались актуальные вопросы реализации на национальном уровне Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ (SAICM), проблемы внедрения новой системы классификации опасности и маркировки химической продукции на основе Согласованной на глобальном уровне системы классификации и маркировки химической продукции (СГС или GHS), обмена информацией об опасных свойствах веществ, внедрения регламента Евросоюза по регулированию обращения химической продукции «REACH» в части требований, касающихся импортеров из третьих стран, проблемы регулирования биоцидов.

Словенской стороной был предоставлен план поэтапной реализации SAICM. Особый интерес вызвали мероприятия по минимизации риска воздействия химического фактора на здоровье человека. Словения в последние годы много и активно работает в международных организациях по проблемам химической безопасности. К сожалению, отсутствие в Российской Федерации уполномоченного правительством органа по реализации Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ не позволило представителю России войти в бюро SAICM и возглавить работу региона Центральной и Восточной Европы,

На встрече широко обсуждались проблемы гармонизации национальных классификаций опасности с СГС. Сегодня в России СГС включена в проект Технического регламента «О безопасности химической продукции», разработанного структурами Министерства промышленности и торговли. В настоящее время органами здравоохранения и природоохраны не уделяется должного внимания этой проблеме.

Большой интерес у словенской стороны вызвала Автоматизированная распределенная информационно-поисковая система (АРИПС) «Опасные вещества», разработанная ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора.

Четырехчасовая встреча рабочей группы по химической безопасности завершилась обсуждением и согласованием основных направлений двусторонней деятельности в области химической безопасности для включения в итоговый протокол VII заседания.

22 мая 2009 г. состоялось пленарное заседание, на котором обсуждались следующие вопросы:

1. Обмен информацией о состоянии экономик Российской Федерации и Республики Словении и мерах, предпринимаемых правительствами обеих стран в целях преодоления последствий мирового финансово-экономического кризиса. Итоги торгово-экономического сотрудничества между Российской Федерацией и Республикой Словенией в 2008 г. и основные направления его дальнейшего развития.

2. Состояние и развитие договорно-правовой базы торгово-экономического сотрудничества между двумя государствами.

3. Основные направления двустороннего сотрудничества. Обсудив перспективы сотрудничества в области химической безопасности, стороны договорились:

- обмениваться информацией между российскими и словенскими организациями, осуществляющими деятельность в области химической безопасности.

- осуществлять консультативную деятельность в отношении соблюдения требований REACH – по требованиям, предъявляемым к импортерам из третьих стран.

- осуществлять обмен информацией по внедрению СГС.

4. Организационные вопросы работы Комиссии

Стороны договорились, что в рамках Комиссии создается Рабочая группа по сотрудничеству в области химической безопасности.

Х.Х. Хамидулина

Материал поступил в редакцию 25.06.09.

УДК 615.9(063)(100)

2-ая МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО РЕГУЛИРОВАНИЮ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ 11–15 мая, 2009 г., Женева (Швейцария)

11–15 мая 2009 г. в Женеве состоялась 2-ая Международная конференция по регулированию химических веществ (ICCM2). В конференции приняли участие представители правительств 118 стран-участниц Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ (SAICM) и наблюдатели от правительств от 24 стран, не являющихся участниками SAICM, представители межправительственных организаций и конвенций, включая Роттердамскую, Стокгольмскую и Базельскую конвенции, Организацию европейского сотрудничества и развития (ОЭСР), ФАО, ВОЗ, ВТО, ЮНЕП, Европейскую экономическую комиссию ООН, Программу развития ООН, а также представители целого ряда международных и национальных неправительственных организаций.

Прогресс, достигнутый за период после 1-ой конференции по регулированию химических веществ в 2006 г., состоял в укреплении потенциала ряда развивающихся стран и стран с переходной экономикой в области обеспечения химической безопасности в основном за счет финансовой поддержки в рамках Программы ускоренного «запуска» проектов, предоставленной рядом стран и международных организаций; установлении сотрудничества по регулированию химических веществ на национальном уровне и проведении региональных совещаний по линии SAICM, а также выработке предложений по внесению изменений и дополнений в Глобальный план действия по осуществлению Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ. В решениях конференции отмечена целесообразность дальнейшего субсидирования программы ускоренного запуска за счет добровольных взносов международных, региональных и национальных доноров в целях оказания помощи указанной группе стран в создании необходимых инструментов для повышению химической безопасности; подчеркивается роль региональных механизмов в деле регулировании химических веществ, включая определение приоритетов, оказания технической помощи и обмен информацией.

В отношении включения новых задач в Глобальный план действия были приняты следующие решения:

Рекомендовано организовать сотрудничество по исключению свинца из красителей в целях защиты здоровья детей и окружающей среды с возложением функций секретариата на ЮНЕП и ВОЗ по партнерству в данной области. Положительным прецедентом в этой области являются успехи в области исключения свинца из автомобильного топлива,

По вопросу о химических веществах в изделиях с учетом жизненного цикла химических веществ был принят проект по сбору информации в этой области с целью разработки соответствующих рекомендаций. Разрабатываемые предложения должны учитывать согласованную на глобальном уровне систему классификации и маркировки химических веществ. Было предложено, чтобы ЮНЕП включила эту проблему в свою программу работ, а также создать руководящую группу из представителей регионов и Межорганизационной программы по рациональному регулированию химических веществ (IOMC) для оказания содействия в решении данной проблемы. Финансирование должно быть осуществлено за счет заинтересованных международных и национальных организаций.

Обе эти проблемы связаны с экспортом из стран, относящихся к группе развивающихся, изделий, опасных для потребителей, в частности детей.

Следующая проблема касается опасных веществ, содержащихся в электронных изделиях с истекшим сроком службы или после окончания срока службы. Такие изделия зачастую вывозятся в развивающиеся страны, которые не имеют ни опыта, ни технических возможностей переработки и уничтожения этих изделий. Электронные изделия, превращающиеся в отходы, создают серьезную экологическую проблему. Работы в этом направлении уже ведутся в рамках Базельской и Стокгольмской конвенций и в IOMC. На конференции было принято решение обратиться к указанным организациям с просьбой создать рабочую группу по изучению проблем, связанных с конструкцией указанных изделий, используемых в них химических веществ, их возможной переработкой и захоронением с целью выработки соответствующих рекомендаций для принятия на следующей конференции.

По вопросу наноматериалов и нанопродуктов на конференции были приняты рекомедации по продолжению накопления опыта и проведению исследований опасности для здоровья людей и окружающей среды, создаваемой нанопродукцией, по оказанию помощи развивающимся странам и странам с переходной экономикой в создании потенциала в деле применения и регулирования нанотехнологий, по распространению и обмену информацией и ее открытости в данной области. Было предложено, чтобы ОЭСР, IOMC и ИСО продолжили сотрудничество по изучению опасности и возможного регулирования нанотехнологий и нанопродуктов. Некоторыми участниками конференции было отмечено, что решения конференции по нанотехнолоиям не соблюдают принципа предосторожности в отношении этих изделий.

Рекомендации конференции касались также перфторированных химических веществ. Было отмечено, что конференция сторон Стокгольмской конвенции причислила к разряду опасных перфтороктилсульфонаты и перфтороктансульфофторид. Была также отмечена необходимость дальнейшего исследования устойчивости перфторированных химических веществ, длительности их жизненного цикла, присутствия в организме людей и в окружающей среде и их отрицательного воздействия. Применение заменителей, снижение наличия этих веществ в виде примесей является проблемой для стран с разным уровнем технического развития. Было рекомендовано, чтобы страны, входящие в ОЭСР, IOMC, включили данную проблему в свои рабочие планы, создав специальную программу, имеющую целью запрет использования этих веществ там, где это технически возможно и целесообразно. Примером деятельности по сбору информации в данной области был процитирован обзор, подготовленный в ОЭСР по содержанию в продуктах и выбросам в окружающую среду перфторированных сульфонатов, перфтороктановой кислоты, содержащих их соединений и смесей. Обмен информацией должен распространяться на используемые в настоящее время заменители, включая коротко-цепочные фторкарбонаты, критерии выбора заменителей, возможность передачи технологий, успехи в нормативной работе и добровольных программах, мониторинг, выбросы, воздействие этих веществ, их трансформацию в окружающей среде, потенциальное воздействие на людей и окружающую среду. Секретариат SAICM должен обеспечить доступность этой информации для всех участников Стратегического подхода. Руководству специализированной программы предлагается представить отчет на 3-ей конференции по регулированию химических веществ.

Большое внимание было уделено сотрудничеству с другими международными организациями. Имея в виду взаимные интересы с ВОЗ и вклад этой организации в реализацию задач SAICM, а также рекомендации Всемирной ассамблеи здравоохранения о необходимости всемерно учитывать вопросы здоровья при решении проблем химической безопасности, конференция приняла решение о необходимости полностью включить проблемы здравоохранения в международные, региональные и национальные планы реализации Стратегического подхода, а национальным секторам здравоохранения принять активное участие в деятельности Стратегического подхода.

Поскольку Стратегический подход был разработан в соответствии с резолюциями Всемирных встреч на высшем уровне в Рио-де-Жанейро и в Йоганнесбурге и призван обеспечить их решение о достижении к 2020 г. производства и использования химических веществ при нанесении минимального ущерба здоровью людей и окружающей среде, на конференции были приняты ряд решений о дальнейшем укреплении связей с Комиссией по устойчивому развитию с учетом того, что в 2010–2011 гг., что Комиссия обратит особое внимание на значение рационального регулирования химических веществ для достижения Целей развития тысячелетия. Доклад о работе 2-ой Международной конференции по регулированию химических веществ будет представлен на 3-ей сессии Комиссии по устойчивому развитию. На конференции было высказано пожелание, чтобы Комиссия продолжила поддержку деятельности SAICM, в том

числе и финансовую. Участникам Стратегического подхода было рекомендовано принимать активное участие в работе Комиссии.

Конференция не интегрировала Межправительственный форум по химической безопасности (МФХБ) в деятельность SAICM в качестве своего вспомогательного органа. При этом Конференция отдала должное работе, проделанной МФХБ, в том числе по созданию SAICM. Это решение фактически приводит к ликвидации Форума, поскольку состав его участников и круг решаемых задач совпадают с SAICM, в связи с чем возможные доноры прекратили финансовую поддержку Форума.

На конференции были приняты правила ее работы, которые включают правила представительства и аккредитации участников, порядок принятия решений, работу региональных органов, определение бюджета. Руководящим органом конференций является бюро, в которое входят президент, и четыре вице-президента, избираемые из числа аккредитованных правительственных представителей. Бюро избирается на каждой конференции и действует до окончания работы следующей конференции. Рабочими языками конференции являются арабский, английский, китайский, русский и французский. В качестве вспомогательного органа конференции была учреждена Правовая и техническая рабочая группа открытого состава, в обязанности которой входит контроль за реализацией Стратегического подхода, определение показателей прогресса, и приоритетности работ, подготовка проектов решений конференции, включение новых вопросов в Глобальный план действий. Особо подчеркивается важность участия представителей развивающихся стран и стран с переходной экономикой в Рабочей группе открытого состава, при этом им предлагается самим субсидировать участие их представителей в этой группе.

Россия участвовала в работе конференции в качестве наблюдателя, поскольку ее представители не были аккредитованы в соответствии с принятой процедурой, и не могли принимать участие в работе руководящих органах конференции. На современном этапе Стратегический подход к международному регулированию химических веществ тесно увязан с международным политическим, экономическим и техническим сотрудничеством, включая Всемирные саммиты по устойчивому развитию. Участие в нем позволит проводить согласованную политику в интересах России в различных правительственных и неправительственных организациях, максимально использовать накопленный международный опыт в области химической безопасности, совершенствовать отечественную законодательную и нормативную базу, повысить роль и авторитет России в экономическом сотрудничестве. Компетентность российских специалистов позволяет выполнить эти задачи. Одной из первоочередных задач представляется назначение правительственными органами организации, ответственной за представительство России в Стратегическом подходе к международному регулированию химических веществ.

Более полную информацию о работе конференции можно получить на сайте: www.saicm.org

Х.Х. Хамидулина

Материал поступил в редакцию 25.06.09.

НАШИ ПОЗДРАВЛЕНИЯ

21 июня 2009 г. исполнилось 60 лет **Остроумову Сергею Андреевичу**, доктору биологических наук, ведущему научному сотруднику биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

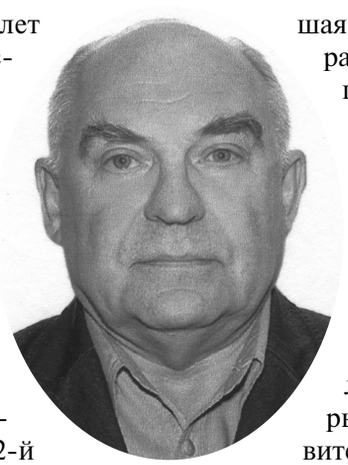
С.А. Остроумов является автором более 300 научных работ, в том числе 17-ти книг, посвященных проблемам фундаментальной и прикладной биологии, актуальным вопросам охраны окружающей среды. Его труды используются в учебных курсах и программах ряда российских университетов. За большую научно-практическую деятельность награжден дипломом и медалью участника ВДНХ, медалью им. П.Л. Капицы «Автору научного открытия», дипломом конкурса «Национальная экологическая премия» (2004), дипломами Академии проблем водохозяйственных наук, дипломом конкурса МОИП (Московского общества испытателей природы). С.А. Остроумов ведет большую общественную работу, активно участвуя в деятельности различных научных организациях РФ, Казахстана, Канады, Молдовы, Сербии, США, Украины. Он является членом правления Всероссийской общественной организации токсикологов, активным автором журнала «Токсикологический вестник».

Всероссийская общественная организация токсикологов, ФГУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, редколлегия журнала «Токсикологический вестник», друзья и коллеги сердечно поздравляют юбиляра, желают здоровья, счастья, больших творческих успехов.

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

УДК 615.9 (092 Лужников)

ЕВГЕНИЙ АЛЕКСЕЕВИЧ ЛУЖНИКОВ
(к 75-летию со дня рождения)



В сентября 2009 г. исполнилось 75 лет доктору медицинских наук, профессору, академику РАМН, заслуженному деятелю науки РФ, руководителю научного отделения лечения острых отравлений Московского городского НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы **Евгению Алексеевичу Лужникову**.

Е.А. Лужников родился 27 сентября 1934 г. в Москве, окончил Московский педагогический институт иностранных языков в 1959 г. и 2-й Московский медицинский институт им. Н.И. Пирогова в 1960 г. Работал врачом на Московской станции скорой помощи, младшим научным сотрудником терапевтической клиники НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, доцентом кафедры госпитальной терапии I ММИ им. И.М. Сеченова, одновременно с 1967 г. исполнял обязанности заведующего Московским городским Центром лечения отравлений. В 1972 г. избран руководителем нового научного отделения лечения острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского. По совместительству с 1986 г. он возглавляет первую в России кафедру клинической токсикологии Российской медицинской Академии последипломного образования.

Проф. Е.А. Лужников является основным организатором специализированной токсикологической службы клинического профиля в нашей стране, в составе которой действуют 40 центров (отделений) лечения отравлений в наиболее крупных городах Российской Федерации. С 1972 г. в течение 30 лет он был главным токсикологом Минздрава России.

Научные исследования проф. Е.А. Лужникова касаются, в основном, клинической токсикологии, изучения методов диагностики и лечения отравлений. Им опубликовано 520 научных работ, 20 монографий и книг, в том числе: монография «Основы реаниматологии при острых отравлениях» (1977 г.), в которой впервые предложено понятие о токсикогенной и соматогенной стадиях острых отравлений; «Физиогемотерапия острых отравлений» (2002 г.), положившая начало применению прямого ультрафиолетового, лазерного, магнитного воздействия на кровь с целью лечения химической болезни; «Эндотоксикоз при острых отравлениях» (2008 г.), где впервые убедительно показано патогенетическое значение синдрома эндотоксикоза при экзотоксикозах различной этиологии; первый в России учебник для медвузов «Клиническая токсикология» (1982, 1994, 1999 гг.), за который в 1999 г. он удостоен премии Правительства РФ; первое руководство для врачей «Острые отравления» (1989, 2000 гг.); получено 34 авторских свидетельств и патентов на изобретения. В 2003 г. он был избран членом-корреспондентом академии технологических наук РФ.

В 1979 г. Е.А. Лужникову была присуждена Государственная премия СССР за разработку и внедрение в клиническую практику сорбционных методов лечения отравлений и эндотоксикозов. Под научным руководством Е.А. Лужникова выполнено 24 докторских и 48 кандидатских диссертаций, материалы которых опубликованы под его редакцией в книге «Неотложная клиническая токсикология» (2007 г.). За успехи, достигнутые в развитии медицинской науки и подготовке научных кадров, в 2000 г. ему присвоено звание Заслуженного деятеля науки РФ. Награжден орденами «Дружба народов» (1997 г.) и «За заслуги перед отечественным здравоохранением» (2003 г.). В 2004 г. он избран действительным членом (академиком) РАМН.

Желаем дорогому Евгению Алексеевичу крепкого здоровья и успешного продолжения его активной научной и педагогической деятельности.

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского
ГОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования
Межрегиональная общественная организация «Ассоциация клинических токсикологов»
Правление Всероссийской общественной организации токсикологов
Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»

Минздравсоцразвития России

Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Роспотребнадзора

БЮЛЛЕТЕНЬ
Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 614.484:632.95

О.О. Синицына, Р.А. Мамонов*, Е.Е. Одинцов, Н.Н. Беляева

Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина РАМН, Москва

ПРЕПАРАТ «ДЕЗАВИД». Комбинированное действие полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и алкилбензидиламмоний хлорида

Препарат «ДЕЗАВИД» представляет собой водный раствор смеси полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (ПГМГ-ГХ) – 2,7±0,3 мас.% и алкилбензилдиметиламмоний хлорида фракций C_{10}-C_{18} (Катамин АБ) – 0,5±0,05 мас.%. Используется для дезинфекции поверхностей в помещениях различного назначения, для очистки и обеззараживания городских, промышленных сточных и оборотных вод и систем охлаждения оборудования, для обеззараживания воды в плавательных бассейнах.

Компоненты препарата «ДЕЗАВИД» являются хорошо изученными с токсикологической точки зрения соединениями. ПДК ПГМГ-ГХ в воде водных объектов установлена на уровне 0,1 мг/л, лимитирующий показатель вредности – общесанитарный, класс опасности 3.

ПДК Катамина АБ в воде водных объектов установлена на уровне 0,3 мг/л, лимитирующий признак вредности – органолептический (запах), класс опасности 3.

В наших исследованиях комбинация данных веществ проявила существенно более высокую эффективность в отношении водных микроорганизмов, что определило необходимость изучить комбинированное токсическое действие данных веществ. Исследования проведены в соответствии с требованиями МУ 2.1.5.720-98.

Пороговая концентрация препарата «ДЕЗАВИД» по влиянию на органолептические свойства воды установлена на уровне 0,45 мг/л (по ПГМГ-ГХ), лимитирующий показатель – пенообразование, что обусловлено поверхностно-активными свойствами компонентов; пороговая концентрация по общесанитарному показателю вредности установлена на уровне 0,03 мг/л (по ПГМГ-ГХ).

В остром опыте с нативным препаратом не удалось достичь смертельного эффекта в дозах до 20000 мг/кг.

Для определения характера комбинированного действия компонентов препарата «ДЕЗАВИД» проведён острый опыт со специально созданной высококонцентрированной смесью ПГМГ-ГХ и Катамина АБ в соотношении 6:1. Величина DL_{50} смеси по ПГМГ-ГХ для белых крыс составила 266,7 мг/кг (194,9÷338,4) (3 класс опасности), что соответствует 0,42 DL_{50} ПГМГ-ГХ и 0,1 DL_{50} Катамина АБ. Полученные данные служат основанием для предположения о более чем аддитивном комбинированном действии этих веществ.

В хроническом санитарно-токсикологическом эксперименте белым крысам вводили внутрижелудочно препарат «ДЕЗАВИД» в дозах 0,2, 0,02 и 0,002 мг/кг (в пересчете на ПГМГ-ГХ) в течение 180 суток.

В качестве интегральных показателей функционального состояния организма учитывали внешний вид, поведение и массу тела животных. Действие данного вещества на организм подопытных животных изучали по следующим показателям: состояние центральной нервной системы (суммация подпороговых импульсов), гемопоэз (количество эритроцитов и уровень гемоглобина), функциональное состояние печени (активность холинэстеразы, АСТ и АЛТ в сыворотке крови), функция почек (уровень мочевины в сыворотке крови).

Определение показателей проводили на 15, 30, 60, 90, 120, 150 и 180 сутки опыта. По окончании хронического эксперимента определяли относительную массу внутренних органов (печени, почек, селезенки, надпочечников, семенников), оценивали гонадотоксическое действие препарата (размер семенников, осмотическая

* фрагмент диссертационной работы

резистентность и подвижность сперматозоидов, гистологические изменения органов).

Отмечена достаточно выраженная зависимость «доза-эффект» при действии препарата «ДЕЗАВИД». Так, препарат в дозе 0,2 мг/кг оказал повреждающее действие на структуру всех изученных органов (печень, почки, 12-перстную кишку, семенники). Также в этой дозе отмечена активизация АЛТ в сыворотке крови и увеличение относительной массы печени.

При действии препарата «ДЕЗАВИД» в дозе 0,02 мг/кг изменения отмечены только в отношении состояния печени: увеличение активности АЛТ в сыворотке крови, относительной массы органа и числа высокоплоидных гепатоцитов.

Воздействие препарата в дозе 0,002 мг/кг не приводило к изменениям ни одного из изученных показателей на протяжении всего эксперимента.

Таким образом, оценка зависимости «доза-эффект» при длительном воздействии препарата «ДЕЗАВИД» позволила определить дозу 0,2 мг/кг как действующую. Доза 0,02 мг/кг, введение которой вызывало менее выраженные изменения меньшего числа показателей, определена в качестве пороговой.

МНД препарата «ДЕЗАВИД» рекомендуется на уровне 0,004 мг/кг, МНК – на уровне 0,08 мг/л.

Учитывая, что на компоненты препарата «ДЕЗАВИД» имеются утвержденные ПДК в воде водных объектов, при рассмотрении вопроса о необходимости обоснования ПДК препарата учитывался характер комбинированного действия его составляющих.

В табл. представлены результаты определения характера комбинированного действия ПГМГ-ГХ и Катамина АБ в составе препарата «ДЕЗАВИД» по пороговым дозам препарата и его компонентов при их изолированном воздействии.

Таблица

Пороговые дозы препарата «ДЕЗАВИД», ПГМГ-ГХ и Катамина АБ по санитарно-токсикологическому показателю вредности

Средство	ПД сан-токс., мг/кг
«ДЕЗАВИД»	0,67
в расчете на ПГМГ-ГХ	0,02
в расчете на Катамин АБ	0,0033
ПГМГ-ГХ	0,5
Катамин АБ	1

Сравнение пороговых доз показало, что токсические эффекты обнаруживаются при изолированном воздействии ПГМГ-ГХ в 25 раз, а Катамина АБ – в 300 раз более высоких дозах, чем при комбинированном действии этих веществ в соотношении 6:1.

Более чем аддитивное действие при хронической интоксикации в дозах близких к пороговой проявляется в большей степени, чем в остром опыте.

Таким образом, результаты собственных исследований «ДЕЗАВИДА» показали, что комбинированное действие ПГМГ-ГХ и Катамина АБ в соотношении 6:1 сопровождается потенцированием токсических эффектов.

Сопоставление экспериментально установленных величин (в расчете на ПГМГ-ГХ) МНК по санитарно-токсикологическому показателю вредности (0,08 мг/л), пороговых концентраций по органолептическому (0,5 мг/л) и общесанитарному (0,03 мг/л) признакам вредности свидетельствует о том, что препарат «ДЕЗАВИД» относится ко 2-му классу опасности. ПДК препарата в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования рекомендуется на уровне 0,03 мг/л по ПГМГ-ГХ, лимитирующий показатель вредности – санитарно-токсикологический.

Материал поступил в редакцию 25.05.09.

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Виноградов В.М., Каткова Е.Б., Мухин Е.А. **Фармакология с рецептурой: Учебник для мед. и фармацевт. уч-щ и колледжей. – 5-е изд., испр.** – СПб.: СпецЛит, 2009. – 864 с. 3000 экз.

Нанотехнологии: Азбука для всех / Под ред. Ю.Д. Третьякова. – М.: Физматлит, 2009. – 365 с. 2000 экз.

Новейший медицинский справочник. Фармакология и лекарственная терапия / Под ред. В.К. Лепахина. – М.: Эксмо, 2009. – 458 с. 3000 экз.

Справочник синонимов лекарственных средств / Г.В. Шашкова и др. – М.: Фармединфо, 2009. – 506 с. 30000 экз.

Среднее профессиональное образование: Здравоохранение. Первая медицинская помощь: Учеб. пособие / П.В. Глыбочко и др. – 3-е изд., стереотип. – М.: Академия, 2009. – 234 с. 2000 экз.

Уильямс Л., Адамс У. **Нанотехнологии: Путеводитель / Пер. с англ.** – М.: Эксмо, 2009. – 364 с. – (Без тайн). 3000 экз.

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC): WR № 14: Workshop report: Use of Markers for Improved Retrospective Exposure Assessment in Epidemiology Studies. 2009. http://www.ecetoc.org

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC): WR № 15: Workshop report: The Probabilistic Approaches for Marine Hazard Assessment. 2009. http://www.ecetoc.org

OECD Environment Directorate. Latest Test Guidelines adopted on 3rd October 2008. http://www.oecd.org/newsEvents

OECD Environment Directorate. Preliminary analysis of Exposure Measurement and Exposure Mitigation in Occupational Settings: Manufactured Nanomaterials. 2009. http://www.oecd.org/newsEvents

OECD Environment Directorate. Publication of the Report of th Workshop on the Regulation of Biopesticides. 2009. http://www.oecd.org/newsEvents

К.К. Сидоров, А.А. Виноградова

НОВЫЕ ГИГИЕНИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ

Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г. Г. Онищенко постановлением № 48 от 18.08.08 утвердил и ввел в действие с 01.10.08 гигиенические нормативы ГН 2.1.5.2415-08 «Дополнение № 2 к гигиеническим нормативам «Ориентировочные допустимые уровни (ОДУ) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования».

УТВЕРЖДЕНЫ
постановлением Главного
государственного санитарного
врача Российской Федерации
от 18 августа 2008 г., № 48

ОРИЕНТИРОВОЧНЫЕ ДОПУСТИМЫЕ УРОВНИ (ОДУ) ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ВОДЕ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПИТЬЕВОГО И КУЛЬТУРНО-БЫТОВОГО ВОДОПОЛЬЗОВАНИЯ

Дополнение № 2 к ГН 2.1.5.2307-07
Гигиенические нормативы
ГН 2.1.5.2415-08*

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ОДУ, мг/л	Лимитирующий показатель вредности	Класс опасности
1	Диметилкарбонат	616-38-6	$C_3H_6O_3$	1,0	общ.	2
2	2,2-Диметилтиазолидин	19351-18-9	$C_5H_{11}HS$	0,01	общ.	3
3	1,3-Диоксолан-2-он	96-49-1	$C_3H_4O_3$	3,0	с.-т.	2
4	Дифенилкарбонат	102-09-0	$C_{13}H_9O_3$	0,1	с.-т.	2
5	Метилфенилкарбонат	13509-27-8	$C_8H_8O_3$	0,1	с.-т.	2

Указатель основных синонимов, технических, торговых и фирменных названий веществ

Вещество	Порядковый номер вещества в таблице
Этиленкарбомат	3

* – зарегистрированы в Министерстве юстиции Российской Федерации 04.09.09, регистрационный номер 12222.

Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г. Г. Онищенко постановлением № 5 от 27.01.09 утвердил и ввел в действие с 01.03.09 гигиенические нормативы ГН 2.1.6.2451-09 «Дополнение № 3 к гигиеническим нормативам «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест».

УТВЕРЖДЕНЫ
постановлением Главного
государственного санитарного
врача Российской Федерации
от 27 января 2009 г., № 5

ОРИЕНТИРОВОЧНЫЕ БЕЗОПАСНЫЕ УРОВНИ ВОЗДЕЙСТВИЯ (ОБУВ) ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

Дополнение № 3 к ГН 2.1.6.2309-07

Гигиенические нормативы

ГН 2.1.6.2451-09*

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ОБУВ, мг/м³
1	[4-0-(2-Ацетиламино-2-дезокси-β-глюкопиранозил)-N-ацетилмурамоил]-L-аланил-D-α-глутамиламид /глюкозаминил мурамилдипептида/		$GLcNA_C(\beta\text{-}4)MurNA_C$	0,002
2	Гексахлорциклобутан /фреон 316; КС 316/	356-18-3	$C_4F_6Cl_2$	10
3	2,7-бис[2-(Диэтиламино)этокси]-9Н-флюорен-9-он /амиксин, тилорон/	27951-97-5	$C_{25}H_{34}N_2O_3$	0,01
4	Пыль карналлита			0,5
5	Пыль серпентинита			0,15
6	Этил-3-этоксипропионат	763-69-9	$C_7H_{14}O_3$	0,05

Дополнения и изменения к ГН 2.1.6.2309-07

Внести следующие дополнения, изменения и уточнения в ГН 2.1.6.2309-07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест» (ранее опубликованные в данном документе сведения по указанным ниже позициям утрачивают силу в связи с тем, что утверждены ГН 2.1.6.1338-03 и ГН 2.1.6.2328-08.

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ОБУВ, мг/м³
275	Гексафторэтан	76-16-4	C_2F_6	20
1009	Октафторпропан	76-19-7	C_3F_8	100
1145	Пыль крахмала			0,1
1301	Тетрафторметан	75-73-0	CF_4	10

* – зарегистрированы в Министерстве юстиции Российской Федерации 13.02.09, регистрационный номер 13336.

Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г. Г. Онищенко постановлением № 25 от 27.04.09 утвердил и ввел в действие с 01.04.09 гигиенические нормативы ГН 2.1.6.2505-09 «Дополнение № 4 к гигиеническим нормативам «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест».

УТВЕРЖДЕНЫ
постановлением Главного
государственного санитарного
врача Российской Федерации
от 27 апреля 2009 г., № 25

ОРИЕНТИРОВОЧНЫЕ БЕЗОПАСНЫЕ УРОВНИ ВОЗДЕЙСТВИЯ (ОБУВ) ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

Дополнение № 4 к ГН 2.1.6.2309-07
Гигиенические нормативы
ГН 2.1.6.2505-09*

I. Ориентировочные безопасные уровни воздействия

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ОБУВ, мг/м³
1	Бис(гидроксиаммоний)сульфат /гидроксиламин сульфат кристаллический/	10039-54-0	$H_8O_6N_2S$	0,3
2	(E)-N-(6,6-Диметил-2-гептен-4-инил)-N-метил-1-нафталенметанамин гидрохлорид /тербинафина гидрохлорид/	78628-80-5	$C_{21}H_{25}N \cdot HCl$	0,01
3	Препарат «Мультифабазим» (по β-галактозидазе)			0,03
4	2,6,10-Триамино-сим-гептазин /мелем/	1502-47-2	$H_6O_6N_{10}$	0,05
5	Триметил[3-(проп-2-ениламино)пропил]азаниум хлорид /ДИМАПА-Кват/	45021-77-0	$C_9H_{19}ON_2Cl$	0,1
6	2-(Трифторметил)пентафторбутадиен-1,3 /октафторпентадиен/		C_5H_8	0,01

II. В гигиенические нормативы ГН 2.1.6.2309-07 внести следующие изменения

1. Исключить сведения по строке № 349.
2. Строку № 349 изложить в новой редакции:

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ОБУВ, мг/м³
349	2-Гидро-2-перфторметилперфторпропан (хладон-329)	382-24-1	C_4HF_9	0,01

3. В строке № 3 дополнения 2 к ГН 2.1.6.2309-07 (ГН 2.1.6.2414-08) изменить сведения по графе «Наименование вещества» и изложить строку № 3 дополнения 2 к ГН 2.1.6.2309-07 в следующей редакции:

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ОБУВ, мг/м³
3	N,N-Диметилциклогексиламин	98-94-2	$C_8H_{17}N$	0,04

III. В связи с утверждением ПДК (ГН 2.1.6.1338-03 с изменениями и дополнениями) утрачивают силу ОБУВ следующих веществ

Наименование вещества	№ п/п ГН 2.1.6.2309-07
2,6-Бис(1,1-диметилэтил)фенол /Агидол-0; 2,6-дитретичный эфир/	309
3,4-ди-трет-Бутил-4-гидроксифенилпропионовая кислота пентаэритритовый эфир /Агидол-110; Фенозан-23/	180
2,6-ди(Диметилэтил)-4-метилфенол /Агидол-1; Алкофен БП/	310

* – зарегистрированы в Министерстве юстиции Российской Федерации 19.05.09, регистрационный номер 13954.

Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г. Г. Онищенко постановлением № 22 от 09.04.09 утвердил и ввел в действие с 01.07.09 гигиенические нормативы ГН 2.1.6.2498-09 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. Дополнения и изменения № 7 к ГН 2.1.6.1338-03».

УТВЕРЖДЕНЫ
постановлением Главного
государственного санитарного
врача Российской Федерации
от 09 апреля 2009 г., № 22

ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ (ПДК) ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

Дополнение №7 к ГН 2.1.6.1338-03
Гигиенические нормативы
ГН 2.1.6.2498-09

I. Предельно допустимые концентрации

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ПДК, мг/м³		Лимитирующий показатель вредности	Класс опасности
				максимальная разовая	среднесуточная		
1	2,4-Бис(диметилэтил)фенол /Агидол-10; 2,4-ди-третбутилфенол/		$C_{14}H_{22}O$	2	0,6	рез.	4
2	2,6-Бис(1,1-диметилэтил)фенол /Агидол-0; 2,6-дитретичный фенол/	128-39-2	$C_{14}H_{22}O$	2	0,6	рез.	4
3	3,4-ди-трет-Бутил-4-гидроксифенилпропионовая кислота пентаэритритовый эфир /Агидол-110; Фенозан-23/	6683-19-8	$C_{73}H_{108}O_{12}$	8	2	рез.	4
4	Гексаметилентетрамин /уротропин/ (по формальдегиду)	100-97-0	$(CH_2)_6N_4$	0,03	0,01	рез.	4
5	2,6-ди(Диметилэтил)-4-метилфенол /Агидол-1; Алкофен БП/	126-37-0	$C_{15}H_{24}O$	2	0,6	рез.	4
6	2,2-Метилен-бис(6-ди(1,1-диметилэтил-4-метилфенол /Агидол-2; Антиоксидант 2246; бисалкофен/	656-11-51	$C_{23}H_{32}O_2$	8	4	рез.	4
7	4,4-2,2-Метилен-бис(2,6-ди(1,1-диметилэтил)фенол /Агидол-23; Антиоксидант 702; Антиоксидант МБ-1/		$C_{29}H_{44}O_2$	8	4	рез.	4
8	п-Октилфенол /1-трет-бутил-4-гексилфенол; Агидол-21/		$C_{16}H_{26}O$	1,5	0,3	рефл.-рез.	3

II. Вместо утвержденных ранее установить ПДК следующих веществ

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ПДК, мг/м³		Лимитирующий показатель вредности	Класс опасности
				максимальная разовая	среднесуточная		
9	1-Фенилэтанон /ацетофенон; фенилметилкетон; метилфенилкетон/	98-86-2	C_8H_8O	0,01	-	рефл.	4

III. Вещества, выброс которых в атмосферный воздух запрещен

№ п/п	Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ПДК, мг/м³		Лимитирующий показатель вредности
				максимальная разовая	среднесуточная	
10	17-Этинилэстра-1,3,5(10)-триендиол /эстрадиол; микрофоллин форте; Diogyn E; Diolin; Estigyn; Estinyl; Ethynilestradiol и др./		$C_{20}H_{24}O_2$	-	-	рез.

Приложение 1 (справочное)

Указатель основных синонимов, технических, торговых и фирменных названий веществ, их порядковые номера в таблице

Вещество	Порядковый номер в таблице
Агидол-0	2
Агидол-1	5
Агидол-2	6
Агидол-10	1
Агидол-21	8
Агидол-23	7
Агидол-110	3
Алкофен БП	5
Антиоксидант МБ-1	7
Антиоксидант 702	7
Антиоксидант 2246	6
Ацетофенон	9
Бисалкофен	6
1-трет-Бутил-4-гексилфенол	8

Вещество	Порядковый номер в таблице
2,4-Ди-третбутилфенол	1
2,6-Ди-третичный фенол	2
Метилфенилкетон	9
Микрофоллин форте	10
Уротропин	4
Фенилметилкетон	9
Фенозан-23	3
Эстрадиол	10
Diogyn E	10
Diolin	10
Estigyn	10
Estinyl	10
Ethynilestradiol	10

Приложение 2 (справочное)

Учреждения – разработчики ПДК

Учреждение	Порядковый номер вещества в таблице
ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина РАМН	9
Научно-исследовательский центр «ЭКОС» ЗАО «Алгама»	4, 10
ФГУН Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека Роспотребнадзора	1–3, 5–7

ИНФОРМАЦИЯ

КОНФЕРЕНЦИЯ ОЭСР ПО НАНОТЕХНОЛОГИЯМ

15–17 июля 2009 г. в Париже состоялась конференция Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР), посвященная проблеме потенциальных преимуществ для экологии, представляемых нанотехнологией: развитие безопасных инноваций как основа дальнейшего экономического роста.

Тематика конференции включала

- Снижение загрязнения окружающей среды
- Чистые технологии
- Ослабление воздействия на окружающую среду
- Социальные стимулы, такие как инновационная политика

Рассмотрение конкретных проблем

- Обработка и очистка воды
- Генерирование, хранение и консервация энергии
- Снижение выбросов автомобильного транспорта
- Уменьшение загрязнений в сельском хозяйстве
- Исследование по ослаблению воздействия на окружающую среду на конкретных примерах.

В ходе обсуждения особое внимание было обращено на современные технологии, потенциальные экологические преимущества, ключевые проблемы в отношении безопасности людей и окружающей среды, совместная оценка положительных и отрицательных факторов использования нанотехнологий, проблемы устойчивости и аспекты безопасности наноматериалов и нанопродуктов на протяжении их жизненного цикла.

Более подробную информацию о конференции можно получить по электронной почте: NANOconfcontact@oecd.org

ПЕРЕЧЕНЬ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, ПРОШЕДШИХ ГОСУДАРСТВЕННУЮ РЕГИСТРАЦИЮ

(печатается с продолжением, сообщение № 87*)

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос-регистрации / Номер РПОХБВ	Дата регист-рации	Срок дейст-вия госреги-страции
1	3-[[4'-[(7-Амино-4-гидрокси-2-сульфонафтален-3-ил)азо]-3,3'-диметокси[[1,1'-бифенил]-4-ил]азо]-4-гидрокси-1-нафталинсульфонат динатрия $C_{34}H_{25}N_5Na_2O_{10}S_2$	110735-25-6	Краситель органический прямой синий светопрочный КУ 240%; Direct Lightfast Blue KU; прямой синий 151 (Direct Blue 151); C.I. 24175	77.99.26.8.У. 5443.6.09 / ВТ 003091	03.06.09	постоянно
2	1,1-Диметилгидразин $C_2H_8N_2$	57-14-7	N,N-Диметилгидразин; диметилгидразин асимметричный; диметилгидразин несимметричный; димазин	77.99.26.8.У. 5867.6.09 / ВТ 002431	11.06.09	временно до 05.03.12
3	2-[2-(4-Нитросульфофенил)-2,1-этенил]-5-[(4-(4-сульфофенил) азофенил)-NNO-азоокси] бензолсульфонат тринатрия $C_{26}H_{16}N_5Na_3O_{12}S_3$	39363-31-0	2-[2-(4-Нитро-2-сульфонатфенил) винил]-5-[4-[(4-сульфонатфенил)диазенил] фенил-NNO-азоокси] бензолсульфонат тринатрия; краситель органический прямой оранжевый светопрочный 2Ж; краситель прямой оранжевый 34,39 (C.I. Direct Orange 34,39); Direct lightfast orange 2Zh; C.I.40215; C.I.40220; входит в состав красителя прямого хаки светопрочного и красителя прямого оливкового светопрочного	77.99.26.8.У. 5444.6.09 / ВТ 002818	03.06.09	временно до 25.04.12
4	Пентамеры проп-1-ена $C_{15}H_{30}$	15220-87-8	Пентамеры пропилена	77.99.26.8.У. 5540.6.09 / ВТ 003049	04.06.09	временно до 03.09.11
5	Продукт взаимодействия 4-[(4-амино-3-метилфенил)амино]фенола с сульфидом натрия $C_{13}H_{14}N_2O \cdot Na_2S_x$	1327-57-7	Краситель органический сернистый синий 3П; краситель органический сернистый синий 3; краситель органический сернистый синий К; C.I. 53440; краситель сернистый 7 (C.I. Sulfur Blue 7); C.I. Leuco Sulfur Blue 7; краситель сернистый синий BRN (Sulfur blue BRN); краситель синий 2BN (Sulfur blue 2BN)	77.99.26.8.У. 5445.6.09 / ВТ 002822	03.06.09	временно до 18.05.12
6	α,α',α'',α'''-(1,2-Этандиилдинитрило)тетракис[ω-гидроксиполи[окси(метил-1,2-этандиил)]поли[окси-1,2-этандиил]] $[C_3H_6O]_m[C_2H_4O]_nC_2H_4N_2$	11111-34-5	Эфир (1,2-этандиилдинитрило) тетракис [пропанола] с полимером метилоксирана и оксираном (4:1); этилендиамин пропоксилированный этоксилированный; пропоксилированный этоксилированный диаминоэтан; полиэфир простой ПП-2504-загуститель; полиэфир простой ПП-3504	77.99.26.8.У. 5539.6.09 / ВТ 003090	04.06.09	постоянно

* Начало в № 4 за 1994 г.

ПАСПОРТ БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

ГОСТ 30333-2007

С 01.01.2009 приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12.08.2008 № 164-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 30333-2007 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации взамен ГОСТ 30333-95.

Паспорт безопасности является обязательной составной частью технической документации на химическую продукцию (*вещество, смесь, материал, отходы промышленного производства*) и предназначен для обеспечения потребителя достоверной информацией по безопасности промышленного применения, хранения, транспортирования и утилизации химической продукции, а также ее использования в бытовых целях.

Организация (лицо), ответственная (ое) за представление химической продукции на рынке (*изготовитель, поставщик, импортер или продавец*), обязана (о) обеспечить потребителя **паспортом безопасности**.

ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора разработает и зарегистрирует в установленном порядке **паспорт безопасности** для химической продукции.

Для заключения договоров на разработку ***паспортов безопасности*** *обращаться:*

117105, Москва, Варшавское шоссе, 19-а

Тел./факс: (495) 633-16-84

E-mail: root@regchem.msk.ru

Продолжается подписка на журнал

«Токсикологический вестник»

на второе полугодие 2009 года.

Подписку можно оформить в почтовых отделениях связи по каталогу агентства «Роспечать».

Журнал распространяется ТОЛЬКО по подписке и адресной рассылке.

Подписной индекс 73397

7-я Международная конференция

СОТРУДНИЧЕСТВО ДЛЯ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМЫ ОТХОДОВ

7–8 апреля 2010 г., Харьков, Украина

Организаторы

- **Независимое агентство экологической информации (НГО «ЭкоИнформ»)**
- **Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»**
- **ООО «Экологический Альянс»**

Тематика конференции охватывает все аспекты управления твердыми отходами, сточными водами и выбросами в атмосферу.

Подробности на сайте конференции:

http://www.waste.com.ua/cooperation

По вопросу участия в конференции обращаться к директору ООО «Экологический Альянс» Анатолию Попову.

E-mail: ecoinvest@vl.kharkov.ua, world_of_waste@mail.ru
Тел./факс: +38 (057) 712-11-05, 759-19-90, моб. +38 (067) 910-67-96
Для писем: «Экологический Альянс», а/я 81, Харьков, 61052, Украина