

Ливанов Г.А., Остапенко Ю.Н., Шестова Г.В., Гольдфарб Ю.С., Рутковский Г.В., Иванова Т.М., Батоцыренов Б.В., Сизова К.В., Малыгин А.Ю. Значение ранней диагностики острых тяжелых отравлений соединениями таллия на начальных стадиях интоксикации	2
Соколова Н.А. Динамика показателей свободных жирных кислот и макроэргических фосфатов в крови больных с острым отравлением уксусной кислотой.....	8
Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Ильинских Е.Н., Юркин А.Ю., Шилов Б.В. Влияние генетического полиморфизма на цитогенетические последствия условий труда у рабочих на нефтепромыслах Сибири	10
Курпякова А.Ф., Быков В.Н., Чепур С.В., Юдин М.А., Никифоров А.С. Изучение эффективности комбинации дитионита, кеторолака и кофеина на модели тяжелого отравления крыс этанолом.....	14
Кобялко В.О., Мирзоев Э.Б., Губина О.А., Фролова Н.А., Ратникова Л.И., Анисимов В.С. Содержание металлотioneинов в печени и почках крыс разного возраста при внутрибрюшинном введении нитрата кадмия	18
Коротаева А.Л., Арзамасцев Е.В., Малиновская К.И., Терехова О.Л., Левицкая Е.Л., Полуэктова В.П., Габова Л.В., Афанасьева Е.Ю., Голубых В.Л., Амбарцумян А.Ш. Токсикологическая характеристика коэнзима Q10 и лекарственного препарата «Кудесан» на его основе..	22
Лукиянов А.С. Рыбы с воздушным дыханием в системах экстренного оповещения о токсичности воды.....	26
Голованова И.Л., Филиппов А.А., Аминов А.И. Влияние гербицида Раундап in vitro на активность карбогидраз молоди рыб.....	31
Гремячих В.А., Томилина И.И. Влияние ПХБ-содержащего препарата «Совтол» на биологические параметры ветвистоусого рачка <i>Ceriodaphnia affinis</i> Lillieborg.....	36
<input type="checkbox"/> Съезды, конференции, совещания.....	40
<input type="checkbox"/> Химическая безопасность	44
<input type="checkbox"/> Юбилейные даты	47

БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

<input type="checkbox"/> Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ.....	53
<input type="checkbox"/> Новые гигиенические нормативы	62
<input type="checkbox"/> Реестр свидетельств о государственной регистрации	63

Livanov G.A., Ostapenko Yu.N., Shestova G.V., Goldfarb Yu.S., Rutkovskiy G.V., Ivanova T.M., Batotsirenov B.V., Sizova K.V., Malygin A.Yu. Significancy of an early diagnosis of severe poisonings by thallium compounds at initial stages of intoxication	2
Sokolova N.A. Dynamics of indicators of free fatty acids and macroergic phosphates in blood of patients with acute poisonings by acetic acid.....	8
Ilyinskikh N.N., Ilyinskikh I.N., Ilyinskikh Ye.N., Yurkin A.Yu., Shilov B.V. Impact of genetic polymorphism on cytogenetic consequences of working conditions in oil field workers in Siberia	10
Kurpyakova A.F., Bykov V.N., Chepur S.V., Yudin M.A., Nikiforov A.S. Examination of the effectiveness of a combination of dithionite, ketorolac and caffeine on the model of a rat heavy poisoning by ethanol	14
Kobyalko V.O., Mirzoyev E.B., Gubina O.A., Frolova N.A., Ratnikova L.I., Anisimov V.S. Content of metallothioneins in liver and kidneys of rats of different age at intra-abdominal administration of cadmium nitrate.....	18
Korotayeva A.L., Arzamastsev Ye.V., Malinovskaya K.I., Terekhova O.L., Levitskaya Ye.L., Poluektova V.P., Gabova L.V., Afanasyeva Ye.Yu., Golubykh V.L., Ambartsumyan A.Sh. Toxicological characteristics of Coenzyme Q10 and Coenzyme Q10-based medicinal preparation Kudesan ...	22
Lukyaynov A.S. Air-breathing fish in early warning systems for water toxicity monitoring.....	26
Golovanova I.L., Filipov A.A., Aminov A.I. Influence of herbicide Roundup in vitro on the activity of carbohydrases in fish young.....	31
Gremyachikh V.A., Tomilina I.I. Impact of PCB-containing preparation SOVTOL on biological characteristics of crustacea <i>Ceriodafnia Affinis</i> Lilleborg	36
<input type="checkbox"/> Congresses, conferences, meetings	40
<input type="checkbox"/> Chemical Safety	44
<input type="checkbox"/> Anniversaries	47

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

<input type="checkbox"/> News on toxicity and hazard of chemical and biological substances	53
<input type="checkbox"/> New hygienic standards.....	62
<input type="checkbox"/> Register of state registration certificates	63

Значение ранней диагностики острых тяжелых отравлений соединениями таллия на начальных стадиях интоксикации

В статье рассмотрены вопросы диагностики тяжелых отравлений солями таллия на ранних стадиях интоксикации, связанные с тем, что характерный для действия таллия клинический симптом — алопеция появляется в сроки, превышающие две недели. Вместе с тем, при тяжелых отравлениях летальный исход наступает значительно раньше, и первые признаки отравления весьма разнообразны и неспецифичны. Особенности клинической картины, не имеющие в раннем периоде интоксикации четкой специфики, в совокупности с отсутствием определенных анамнестических сведений ведут в подавляющем большинстве случаев к поздней диагностике (иногда посмертной). В этом заключается опасность острых тяжелых отравлений таллием, поскольку нераспознанная интоксикация ведет за собой неправильное лечение и гибель больных. При дифференциальной диагностике необходимо обращать внимание на сочетание ряда симптомов, которые могут вызвать подозрение на отравление таллием и потребовать проведения химико-аналитического исследования биосред этих больных. В работе помимо литературных данных, касающихся этиологии, патогенеза и клиники тяжелых отравлений солями таллия, использованы случаи отравления этими веществами, имевшие место в последние годы в гг. Ярославле, Москве и Санкт-Петербурге.

Ключевые слова: острое тяжелое отравление, соединения таллия, диагностики на ранних стадиях интоксикации

Ливанов Г.А., Остапенко Ю.Н., Шестова Г.В., Гольцфарб Ю.С., Рутковский Г.В., Иванова Т.М., Батоцаренков Б.В., Сизова К.В., Малагин А.Ю.

Федеральное государственное учреждение науки «Институт токсикологии» ФМБА России,

г. Санкт - Петербург

Ф е д е р а л ь н о е г о с у д а р с т в е н н о е у ч р е ж д е н и е
«Научно-практический токсикологический центр» ФМБА России, г. Москва

Введение. В общей структуре отравлений металлами соединения таллия как этиологический фактор занимают незначительное место, однако тяжесть течения, сложная дифференциальная диагностика и трудности лечения этих интоксикаций заставляют обращать на них особое внимание. В настоящее время случаи тяжелых и даже смертельных отравлений соединениями таллия возникают у различных групп населения. Возможен риск отравлений таллием рабочих, занятых в электронной и электротехнической промышленности, в оптических системах и других видах производства, где используются таллий или его соединения. В быту источниками отравления таллием могут быть средства, применяемые в борьбе с грызунами – родентициды (сульфаты таллия), косметические препараты-эпиляторы. Известны случаи массовых отравлений людей и животных таллием в зонах естественного загрязнения металлами [16, 18, 12, 26]. Производственные и бытовые отравления таллием являются, как правило, следствием умеренного, длительного его воздействия и симптомы таких отравлений выражены значительно слабее, чем при острых случайных, суицидальных или криминальных интоксикациях. Случаи острых отравлений солями таллия часто носят криминальный характер [17, 20, 24.], а порой и характер химического терроризма [13, 23]. В криминальных целях таллий используется с давних времен и этим он обязан своим физико-химическим свойствам (его соединения не имеют цвета, запаха и вкуса, хорошо растворимы в воде, высокой токсичности (он относится к I-му классу опасности), а также особенностям течения клинической картины интоксикации. Кроме того, таллий широко распространен и, следовательно, легко доступен и не вызывает четкой картины отравления. Все это делает его удобным для применения в преступных целях.

Опасность тяжелых отравлений таллием заключается в том, что диагностика на ранних стадиях интоксикации представляет значительные трудности (если нет четких анамнестических данных), поскольку первые признаки отравления весьма разнообразны и не специфичны. Характерный симптом для токсического действия таллия – алопеция появляется в сроки, превышающие две недели. Вместе с тем, при тяжелых отравлениях летальный исход наступает значительно раньше (7-10 суток). Есть основания полагать, что число не выявленных смертельных случаев отравлений таллием превышает число выявленных случаев. В связи с этим возникает необходимость анализировать особенности клинической картины тяжелых форм отравлений солями таллия с целью выявления наиболее характерных ранних признаков интоксикации и их сочетаний, что позволит проводить своевременную диагностику отравлений и предупреждать летальные исходы.

1. Анализ клинической картины тяжелых форм отравлений солями таллия
Все клинические проявления отравлений солями таллия можно объяснить с точки зрения устойчивых представлений о механизме его токсического действия, связанного с вытеснением внутриклеточного калия. Однако действие таллия, обусловленное химическим и биологическим сходством ионов калия и таллия, определяет его основной токсический эффект. Поскольку ионы радиуса К⁺ и Тl⁺ близки, они способны замещать друг друга в ферментах, причем, катионы таллия обладают большей скоростью проникновения через клеточные мембраны внутрь клетки. В частности, ионы таллия способны замещать ионы калия в активированной Na⁺, К⁺- АТФ-азе, так как имеют в 10 раз большее сродство к этому ферменту, чем ионы калия [4, 6]. Интоксикация таллием ведет к нарушению обмена рибофлавина, с которым он образует нерастворимый комплекс, формирующийся рибофлавиновой недостаточности и нарушению энергообеспечения клеток [4, 6]. Установлено, что таллий усиливает процессы перекисного окисления липидов, повреждает мембранный аппарат и вызывает гибель клеток [15, 21, 27,]. Все это приводит к блокированию активного транспорта ионов целочных металлов и вызывает нарушения в различных функциональных системах, что определяет разнообразную клиническую картину. Следует отметить, что соли таллия обладают мутагенными, канцерогенными и тератогенными свойствами, а также влияют на иммунную и гормональную систему [2, 6].

Таллий и его соединения могут поступать в организм различными путями: энтералью, при ингаляции паров или пыли, проникать через неповрежденную кожу. После приема внутрь максимальная концентрация таллия в крови обнаруживается через 2 часа и распределяется равномерно между эритроцитами и плазмой. Токсическая концентрация таллия в сыворотке крови составляет 0,1-0,5 мкг/мл, в моче – более 0,2 мкг/мл. Следует отметить, что после приема солей таллия с пищей или водой в первые часы таллий может быть обнаружен в моче, которая приобретает зеленое окрашивание, что может служить одним из ранних диагностических признаков отравления. Поскольку повышенное содержание таллия в моче сохраняется достаточно долго, она может служить информативным биообъектом на разных стадиях отравления таллием – скрытой, токсикогенной и соматогенной [3]. После всасывания в кровь таллий распределяется в органах неравномерно. По степени тропности к различным органам таллий распределяется следующим образом: почки > семенники > печень > селезенка > предстательная железа > головной мозг > волосы. В последующем при перераспределении значительное количество таллия обнаруживается в костной ткани и в волосах. Через 3 недели 60% таллия, присутствующего в организме, находится в волосах [4]. Следует отметить, что только очень малые

концентрации таллия задерживаются в нервных тканях, хотя основные симптомы отравления этим ядом характерны для действия на центральную нервную систему. Это может объясняться высокой чувствительностью нервной ткани к малым количествам таллия [14]. Период полувыведения таллия из организма по разным данным [1, 8] составляет от 3-5 до 30 суток. Длительная задержка яда в организме создает опасность кумуляции. Фаза элиминации начинается в среднем через сутки и зависит от начала лечения. Экскреция таллия происходит, главным образом, с мочой и калом (соотношение как 2:1), небольшое количество его выделяется с желчью, через потовые, слюнные, молочные железы и через волосные фолликулы. Этот процесс сопровождается конкуренцией К⁺/Тl⁺, поэтому введение препаратов калия способствует повышению выведения таллия с мочой и снижению концентрации его в органах [1, 6].

Острые, подострые и хронические отравления имеют сходную клиническую картину, различаясь выраженностью и быстротой возникновения симптомов. Летальная доза при пероральном приеме составляет для человека 15-20 мг/кг [4, 8]. Однако известны случаи, когда смертельными оказывались меньшие дозы (3,62 ммоль) [4]. По данным целого ряда авторов [1, 4, 5, 6, 7, 8, 20, 26, 30] при приеме внутрь токсических доз таллия клиническая картина развивается уже через 3-4 часа и проявляется расстройствами функции желудочно-кишечного тракта (гошнота, рвота, боли в эпигастральной области, диарея или запоры), нарушением дыхательной (ринит, кашель, одышка) и сердечно-сосудистой (тахикардия, гипертензия, токсическая миокардиодистрофия) систем. В последующие сутки присоединяются нарушения функции нервной системы (астения, бессонница, тремор, болезненные парестезии, судороги, психические расстройства), нарастают расстройства дыхания и сердечной деятельности. В тяжелых случаях в течение 7-10 дней, а иногда и раньше, развивается кома, респираторный паралич и наступает смерть. При применении меньших доз на первое место выступает неврологическая симптоматика: болезненные парестезии пальцев рук и стоп, атаксия, паралич черепных нервов (характерна оптическая невропатия), тремор, энцефалопатия [1, 2, 7, 8, 26, 30]. Наиболее характерный симптом отравления таллием – алопеция появляется относительно поздно (через 10-14 дней), что часто затрудняет диагностику на ранней стадии интоксикации. Выпадение волос сопровождается изменениями в кожной ткани – шелушением, гиперкератозом ладоней и подошв, трещинах, коричневая пигментация, характерно также отложение темного пигмента в коже, окружающей волосяную луковицу [1, 4, 6]. При выздоровлении наиболее длительно сохраняются нарушения функции нервной системы. Выпадение волос обычно завершается через 1-2 месяца.

2. Ретроспективный анализ клинической картины отравлений солями таллия, включая материалы следствия, по некоторым случаям тяжелых отравлений

2.1. Массовое криминальное отравление сульфатом таллия в г. Ярославле

Расследовались случаи заболеваний 14 человек. У всех заболевших отмечались сходные, в разной степени выраженные симптомы: расстройства желудочно-кишечного тракта (гошнота, рвота, боли в животе, диарея), признаки полинейропатии (боли в конечностях, в спине, мышечная слабость, тремор), нарушение функции сердечно-сосудистой системы (сердцебиение, боли в сердце, одышка). У тех больных, у которых клинические проявления интоксикации продолжались 10-12 дней и более, наблюдалось выпадение волос. Отравление было не распознано, и 6 случаев с наиболее тяжелым течением закончились летальными исходами со следующими диагнозами: кома неясной этиологии (2 случая), отек мозга на фоне полинейропатии (1 случай), приобретенная токсическая энцефалопатия (1 случай), пневмония (1 случай), острая сердечная недостаточность (1 случай).

Подозрение на отравление таллием возникло при обследовании двух больных, находившихся на лечении в стационаре г. Ярославля с явлениями тяжелой токсической энцефалопатии. После консультации представителя Института Токсикологии этим больным было проведено химико-токсикологическое исследование на содержание тяжелых металлов в пробах крови с использованием метода, основанного на инверсионной вольтамперометрии [36], выполненной на вольтамперометрическом анализаторе «ISS-820» (Дания). В пробах крови этих больных таллий было найдено высокое содержание Пl – 23,0 и 270 мкг/дм³ (табл. 1). Несмотря на проведение обычной детоксикационной и поддерживающей терапии, состояние больных продолжало ухудшаться, в связи с чем этим больным были проведены сеансы плазмафереза. В результате этого лечения концентрация Пl в крови стала быстро снижаться (табл. 1) и состояние больных в течение нескольких дней существенно улучшилось.

Содержание Тl в крови двух больных (мкг/дм³)

Дата проведения исследования	Больная Г., 28 лет	Больной Г., 29 лет
19.04.07	23.0	250.0
29.04.07	—	272.0
14.05.07	11.0	44.0
23.05.07	9.0	50.0
20.06.07	1.0	не обнаружен

При сопоставлении этих случаев с шестью летальными исходами с непонятной причиной, имевшими место в предшествующий период, было заподозрено отравление Тl. Поскольку ни при жизни, ни посмертно химико-аналитическое исследование умерших не проводилось, была проведена эксгумация трупов. При исследовании трупного материала в 5 случаях из 6-ти был обнаружен Тl в следовых концентрациях.

Приведенные выше сведения еще раз подтвердили положение о том, что диагностика отравлений таллием на ранних стадиях интоксикации сталкивается с серьезными трудностями, поскольку симптоматика отравления весьма разнообразна и неспецифична. Однако в данном случае даже наличие типичного проявления интоксикации таллием – алопеция не вызвало подозрения на отравление, в результате чего отравления были не распознаны, и тяжелые случаи закончились смертельным исходом. Диагноз был поставлен только на основании химико-аналитического исследования биосред больных и данных эксгумации погибших.

При изучении протоколов следствия и медицинских документов по случаям групповых криминальных отравлений людей установлено, что всего было отравлено 14 человек путем добавления в пищу (кофе, икра, вода) сульфата Тl в виде порошка.

2.2. Случай криминальных отравлений таллием в г. Санкт-Петербурге.

В январе 2009 года в г. Санкт-Петербурге в одной из коммунальных квартир в течение короткого времени скончались три человека в возрасте 19, 35 и 59 лет. Врачи бригад скорой помощи, также как и врачи стационара, куда были доставлены больные, диагностировали энцефалопатию и полиневропатию алкогольного генеза. Во всех трех случаях причина смерти – острое отравление солями таллия было установлена только в результате химико-токсикологического анализа трупного материала при судебно-медицинском исследовании.

2.3. Случай массового отравления Тl на производстве в г. Москве.

8 человек в возрасте от 19 до 66 лет имели на производстве ингаляционный и кожный контакт с неизвестным порошкообразным веществом в течение рабочего дня. Средствами индивидуальной защиты не пользовались. Через сутки 6 человек почувствовали боли в животе, слабость. В дальнейшем у 7 пострадавших появились боли и онемение нижних конечностей, у 5 – боли в коленных и голеностопных суставах, у 2 – боли в мышцах грудной клетки, у 3 – потеря аппетита, у 5 – алопеция, у 3 – энцефалопатия. После того как один больной обратился по телефону в Научно-практический токсикологический центр ФМБА России, было заподозрено отравление Тl. Все пострадавшие были активно выявлены и госпитализированы в Московский центр лечения отравлений через 18-42 дня после экспозиции. При исследовании мочи методом атомно-абсорбционной спектроскопии у 7 пациентов был обнаружен Тl (табл. 2). На основании клинической картины 2 больных были расценены как тяжелые с концентрацией Тl 892 и 2440 мкг/л, 3 – средней тяжести, уровень Тl 324 – 1690 мкг/л, 3 – с легкой формой при содержании Тl от 0 до 46 мкг/л (допустимый уровень Тl в моче при данном методе исследования 1,7 мкг/л). Биохимические показатели и данные ЭКГ исследования не выявили заметных отклонений от нормы. Лечение включало введение димекратопропансульфоната натрия 5% раствора (унитиол), йодистого калия, энтеросорбцию с использованием активированного угля, кишечный лаваж, витамины группы В, С, симптоматические средства. Двум больным с наиболее тяжелым течением отравления было проведено по 2 сеанса гемодиализа, после которых они отмечали субъективное улучшение самочувствия. При повторном исследовании мочи через 18-21 день было отмечено снижение уровня Тl на 8,6 – 89,6%, в том числе у больных, которым проводился гемодиализ, уровень Тl снизился на 89,6-53,4%. Длительность пребывания в стационаре составила в зависимости от тяжести отравления 14-41 дней, все больные были выписаны с клиническим выздоровлением. Таким образом, кожное и ингаляционное воздействие таллия вызывает типичную клиническую картину отравления, однако при отсутствии данных о контакте с этим токсикантом, диагностика и лечение проводились поздно – когда проявились такие типичные

симптомы как артралгия, полинейропатия и алопеция. Уровень содержания Тl в моче в основном коррелирует с тяжестью клинической картины, а лечение с применением антидотов и усилением очищения кишечника способствует его снижению. Гемодиализ способствует улучшению состояния больных и может быть рекомендован при наиболее тяжелых отравлениях.

Таблица 2

Клинико-лабораторные данные 8 больных с отравлением таллием

№№ паци- ента	Время от контакта до госпитализации (дни)	Симптомы					Концентрация таллия в моче: анализ № 1/ анализ № 2 (мкг/л)
		Боль в животе, отсутствие ап- петита	Онемение, боль в ногах, суставах	Боль в мыш- цах грудной клетки	Алопеция	Слабость, энцефалопатия	
1	18	+ / +	+ / -	+	+	+ / +	2440 / 252
2	21	+ / -	+ / +	-	+	+	528 / 288
3	21	+ / -	+ / +	+	-	+ / +	- / 28
4	21	+ / +	+ / +	-	+	+ / +	892 / 416
5	42	+ / +	+ / +	-	+	+	46 / -
6	21	- / -	+ / +	-	-	+	324 / 296
7	18	- / +	+ / +	-	+	+	1690 / 691
8	30	+ / -	+ / +	-	-	+	0

3. Особенности дифференциальной диагностики тяжелых отравлений таллием

Диагностика отравления таллием на ранних стадиях интоксикации представляет значительные трудности, если нет четких анамнестических данных и химико-аналитического исследования биосред пациентов. Это связано с тем, что наиболее характерный симптом для токсического действия таллия – алопеция появляется в сроки, превышающие две недели. В то время как при тяжелых отравлениях летальный исход наступает значительно раньше. Поэтому опасность острых тяжелых отравлений таллием заключается в том, что проявляющиеся первые признаки интоксикации весьма разнообразны и неспецифичны, что затрудняет дифференциальную диагностику. В первые часы отравления чаще всего наблюдаются гастроинтестинальные расстройства, сопровождающиеся болями в животе, рвотой, диареей, иногда задержкой стула, и имитирующие картину пищевого отравления. В последующие часы присоединяются нарушения функции нервной (периферическая невропатия и энцефалопатия) и сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия, тахикардия, нарушение ритма). В ряде случаев первые признаки напоминают воспалительные процессы и маскируются под грипп или бронхоневмонно. Такое разнообразие симптоматики затрудняет своевременную диагностику отравления, что приводит к не эффективному лечению и в тяжелых случаях к летальному исходу.

Хотя дифференциальная диагностика тяжелого отравления солями таллия весьма затруднена, следует отметить, что сочетание целого ряда симптомов может заставить заподозрить отравление таллием. Одним из ранних неспецифических маркеров интоксикации является появление парестезий пальцев рук и стоп после признаков пищевого отравления [6]. Наиболее типичны парестезии в сочетании со жгучими болями в подошвах, а также боли, локализованные по внутренней поверхности бедер [1, 5]. Болезненные парестезии в пальцах рук и ног могут сочетаться с потерей болевой и тактильной чувствительности, при этом считается характерным сохранение рефлексов на ранней стадии болезни, что может быть дифференциальным признаком от синдрома Гийена-Барре [4]. Сочетание проявлений полиневропатии с алопецией также является характерным при таллиевой интоксикации, однако при больших дозах таллия летальный исход, как уже было отмечено выше, наступает значительно раньше симптомов выпадения волос. Расстройства зрения – птоз, диплопия, снижение остроты зрения и признаки поражения других черепно-мозговых нервов (парез лицевого нерва) в сочетании с парестезиями могут служить основанием для проведения химико-токсикологического исследования на содержание таллия в биосредах пациентов. Следует обращать внимание на нарушения сердечно-сосудистой системы, осо-

бенно на изменение ритма сердца. Описаны случаи внезапной смерти, связанной с остановкой сердца [6]. Как уже было отмечено выше, в первые часы интоксикации таллием моча может приобретать зеленое окрашивание, что также может вызвать подозрение на отравление таллием [6].

Безусловно, в ранние сроки тяжелой интоксикации, когда наблюдается судорожный синдром, возбуждение, делирий, кома и летальный исход наступает быстро, точный диагноз может быть поставлен только при проведении химико-токсикологического исследования биологических сред (кровь, моча, в более поздние сроки – волосы, ногти). Выбор вида биосред на разных стадиях отравления имеет значение. Поскольку таллий быстро поступает в кровь, а затем распределяется по органам, и прежде всего, в почки, то на ранних стадиях отравления в качестве биосред используются кровь и моча. Некоторые авторы [3] считают, что наиболее информативным биобъектом является суточная моча пострадавших, особенно в ранние сроки интоксикации, однако, многочисленными исследованиями также показана информативность анализа крови на содержание таллия как в ранние, так и в поздние сроки отравления [2, 4, 5, 6, 26, 28]. По-видимому, имеет значение проведение исследования того и другого биобъекта в зависимости от состояния больного и условий его обследования. Клинический опыт и эксперименты на животных показывают, что только ранняя диагностика интоксикации таллием, особенно до развития неврологических симптомов, позволяют провести эффективную терапию. Лечение отравлений таллием направлено, в первую очередь, на удаление из организма яда: промывание желудочно-кишечного тракта, прием активированного угля и калия хлорида, кишечный лаваж, в тяжелых случаях – форсированный диурез, гемодиализ. В качестве антидотной терапии используется калий ферроцианоферат (берлинская лазурь), применение которого эффективно в первые 1-2 дня [11, 28, 29]. Установлено, что период полувыведения таллия из организма без лечения составляет в среднем 8 дней, а с использованием берлинской лазури – около 3-х дней [9]. В качестве средств, способствующих выведению таллия из организма, использовались также унитиол, D-пеницилламин, этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) димеркаптола, однако, данные об эффективности этих препаратов весьма противоречивы [1, 5, 9, 10].

Заключение. Проведенный нами анализ литературных данных и клинических примеров тяжелых форм отравлений солями таллия показал, что на ранних стадиях интоксикации диагностика затруднена, если нет четких анамнестических и химико-токсикологических данных. Это связано с особенностями течения клинической картины интоксикации, первые признаки которой весьма разнообразны и не специфичны. Это могут быть и симптомы, имитирующие пищевое отравление, и при-

знаки периферической невропатии, и энцефалопатии, и расстройства сердечно-сосудистой системы, а в ряде случаев первые признаки отравления маскируются под грипп или бронхопневмонию. На этом этапе диагноз отравления ПТ практически никогда не был поставлен. Наиболее характерный для токсического действия таллия клинический симптом — алопеция появляется в сроки, превышающие две недели. Вместе с тем, при тяжелых отравлениях летальный исход наступает значительно раньше. В этом заключается опасность острых тяжелых отравлений таллием, поскольку нераспознанная интоксикация приводит к неправильному лечению и гибели больных. Поэтому дифференциальная диагностика этого отравления на ранней стадии требует особого внимания. Следует иметь в виду, что хотя первые признаки отравления неспецифичны и взятые отдельно не дают основания диагностировать отравление, однако, сочетание предшествующих желудочно-кишечных расстройств с восходящего характера болями и нарушениями чувствительности в нижних и верхних конечностях дают основание заподозрить отравление соединениями металлов, в частности ПТ и служить аргументом для направления биосред пациентов на химико-токсикологическое исследование. Расстройство сердечно-сосудистой системы и нарушение функции печени, почек могут быть учтены как дополняющие подозрение факторы. Подозрение на отравление таллием как причину внезапной смерти от отека головного мозга или остановки сердца должно возникнуть, если нет других убедительных объяснений.

В тех случаях, когда заболевание носит групповой (семейный) или массовый характер подозрение на отравление ПТ будет вполне обоснованным и требует помимо клинико-биохимических и инструментальных исследований проведение химико-токсикологического анализа биосред на тяжелые металлы, в том числе таллий.

Авторы считают необходимым особо подчеркнуть, в каждом случае, когда у больного возникают тяжелые диспептические расстройства, вслед за которыми развиваются неврологические нарушения и сердечная недостаточность, врач должен исключить (путем химико-токсикологического анализа биосред (больного) острое или подострое отравление солями таллия или другими металлами.

С необходимостью решать подобную проблему могут столкнуться врачи различных специальностей: терапевты, реаниматологи, инфекционисты, невропатологи, а также судебно-медицинские эксперты и патологоанатомы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бонитенко Ю.Ю., Никифоров А. М. Чрезвычайные ситуации химической природы. – СПб., «Гипократ», 2004. – 463 с.
2. Воробьев Н.В. Клинико-патогенетические особенности острых отравлений таллием: Автореф. дис. канд. мед. наук. – СПб., 2003. – 22 с.
3. Лузанова И.С. Разработка и оптимизация методик определения s-, p-, d- элементов в биоматериалах при химико-токсикологических и медико-криминальных исследованиях: Автореф. дис. канд. биолог. наук. – М., 2008. – 12 с.
4. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология) / Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М. А., Строчкова Л. С. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
5. Федотов И.А. Влияние комплексонов на течение тяжелых отравлений солями таллия: Автореф. дис. канд. мед. наук – СПб., 2008. – 21 с.
6. Чухловина М. Л. Медико-гигиенические аспекты нейротоксичности таллия // Гигиена и санитария -1999. - № 4. – С. 38-40.
7. Щербак С.Г., Бельских А.Н., Сафана А.М. Клиническая картина и современная терапия острого отравления таллием // Медицинские последствия экстремальных воздействий на организм // СПб., 2000. – С.54-58.
8. Эллиенхорн М. Дж. Медицинская токсикология: диагностика и лечение отравлений у человека. – Москва, «Медицина», 2003, Т. 2, С. 676-677.
9. Vargas-Moguel R., Villeda-Hernandez J. et al. Combined D-penicillamine and Prussian blue as antidotal treatment against thallotoxicosis in rats: evaluation of cerebellar lesions // J. Toxicology. – 1994. – Vol. 89. – Issue 1. – P. 15-24.
10. Baselt R.C. Analytical Procedures for Therapeutic Drug Monitoring and Emergency Toxicology // 2nd ed. Littleton, MA, PSG Publishing Co., Inc., 1987.
11. De Groot G., Van Heijst A. N. P. Toxicokinetic aspects of thallium poisoning. Methods of treatment by toxin elimination // The Science of The Total Environment. – 1988. – Vol. 71. – Issue 3. – P. 411-418.
12. Dmowski K., Kozakiewicz A., Kozakiewicz M. Small Mammal Populations and Community under Conditions of Extremely High Thallium Contamination in the Environment // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 1998. – Vol. 41, Issue 1, P. 2-7.
13. Elcock D., Klemic G.A., Taboas A.L. Establishing remediation levels in response to radiological dispersal event (or “dirty bomb”) // Environ. Sci. Technol. – 2004. – Vol. 38. – P. 2505-2512.
14. Galvan-Arzate S., Santamaria A. Lipid peroxidation (LP) in brain regions of developing rats induced by chronic low-level thallium administration // Toxicology Letters. -1998. – Vol. 95, Supplement 1. – p.55.
15. Hanzel C.E., Verstreten S.V. Thallium induces hydrogen peroxide generation by impairing mitochondrial function // Toxicology and Applied Pharmacology. – 2006. – Vol. 216. – P. 485-492/
16. Heim M., Wappelhorst O., Markert B. Thallium in terrestrial environments – Occurrence and effect // Ecotoxicology. – 2002. – Vol. 11. – P. 369-377.
17. Jin-yuan Zhao, Xi-xian Xu, Li-jun Mao. Acute thallium poisoning and its treatment with two cases report // Toxicology Letters. – 1998. – Vol. 95, Supplement 1. – p. 137.
18. John Peter A.L., Viraraghavan T. Thallium: a review of public health and environmental concerns // Environment International. – 2005. – Vol. 31, Issue 4, P. 493-501.
19. Krus E. Lin, Hodel C.M., Schurgast H. Progress in diagnosis of chronic toxic metal poisoning by hair analysis // Toxicology Letters. – 1996. – Vol. 88. – P. 84.
20. Locatelli C., Petrolini V. Long-lasting polyneuropathy and psychiatric disorders in thallium poisoning. Study of six cases // Toxicology Letters. – 2003. – Vol. 144, Supplement 1, s 72.
21. Molina C.P., Verstreten S.V. Thallium (III)-mediated changes in membrane physical properties and lipid oxidation affect cardiolipin-cytochrome c interactions // BBA – Biomembranes. – 2008, doi: 10. 1016 .
22. Rappaport F., Eichhorn F. A quick method for detection of thallium in urine in cases of poisoning // Clinica Chimica Acta. – 1957. – Vol. 2, Issue 1. – P. 16-20.
23. Ring J.P. Radiation risks and dirty bomb // Health Phys. – 2004. – Vol. 86. – S42-S47
24. Rusyniak D. E.V.D., Furbee R.B. MD, Kirk M. A. MD. Thallium and arsenic poisoning in a small Midwestern town // Annals of Emergency Medicine. – 2002. – Vol. 39, Issue 3. – P. 307-311.
25. Tangfu Xiao, Juyanta Guha. Naturally occurring thallium: a hidden geoenvironmental health hazard // Environment International. – 2004. – Vol. 30, Issue 4. – P. 501-507.
26. Villanueva E., Hernandez-Cueto C. Poisoning by thallium. A study of five cases // Drug Safety. – 1990. - Vol. 5. – P. 384-389.
27. Villaverde M.S., Verstreten S.V. Effect of thallium (I) and thallium (III) on liposome membrane physical properties // Arch. Biochem. Biophys. – 2003. – Vol. 417. – P. 235-243.
28. Vrij A.A., Cremers H.M.H.G., Lustermaans F.A. Successful recovery of a patient with thallium poisoning // The Netherlands Journal of Medicine. – 1995. – Vol. 47. – Issue 3. – P. 121-126.
29. Yang Yongsheng, Faustino P.J. et al. Quantitative determination of thallium binding to ferric hexacyanoferrate: Prussian blue // International J. of Pharmaceutics. – 2008. – Vol. 353. – P. 187-194.
30. Yu-Tai Tsai, Chin-Chang Huang et al. Central nervous system effects in acute thallium poisoning // Neuro Toxicology. – 2006. – Vol. 27. – P. 291-295.

Livanov G.A., Ostapenko Yu.N., Shestova G.V., Goldfarb Yu.S., Rutkovskiy G.V., Ivanova T.M., Batotsirenov B.V., Sizova K.V., Malygin A.Yu.

Significance of an early diagnosis of severe poisonings by thallium compounds at initial stages of intoxication

Institute of Toxicology, Federal Medical-Biological Agency (FMBA), St-Petersburg
Scientific and Practical Toxicology Center, FMBA, Moscow

Issues of diagnosis of severe poisonings by thallium salts are examined at early stages of intoxication due to the fact that a distinctive clinical symptom of thallium exposure – alopecia – becomes apparent during timeframes exceeding two weeks. Further more, at severe poisoning, lethality occurs much more earlier and the first signs of poisoning are rather diverse and non-specific. Non-distinctive peculiarities of the clinical picture at the early stage of intoxication together with the absence of determined anamnestic data lead in most cases to a late diagnosis (sometimes postmortal). Therein lays the hazard of acute heavy poisonings by thallium because an undiagnosed intoxication results in an inadequate treatment and patient's death. At differential diagnosis it is necessary to take into account a combination of joint symptoms which can arouse a suspicion of thallium poisoning and may request to conduct a chemical and analytical investigation into patients' biomed. Besides literature references relating to the etiology, pathogenesis and clinical picture of severe poisonings by thallium salts, cases of poisoning by these substances occurred in cities of Yaroslavl, Moscow and St-Petersburg in recent years were used in this study.

Материал поступил в редакцию 14.07.2010 г.

Динамика показателей свободных жирных кислот и макроэргических фосфатов в крови больных с острым отравлением уксусной кислотой

У пациентов с острым отравлением уксусной кислотой в динамике изучены показатели свободных жирных кислот, макроэргических фосфатов. Установлено значительное повышение уровня свободных жирных кислот, которое достигало максимальных значений на 5-6 сутки от момента отравления. Выявлен дисбаланс макроэргических фосфатов.

Ключевые слова: уксусная кислота, свободные жирные кислоты, АТФ, АДФ, АМФ.

Введение. В последние десятилетия суициды в Российской Федерации приобрели масштабы национального бедствия и находятся в пределах 30- 80 на 100 тыс. населения [1], а в Забайкальском крае среди сельских жителей эта цифра достигает 105,4 случаев [3]. Наиболее тяжелые по клиническому течению и исходам являются суициды, обусловленные отравлением концентрированной (70%) уксусной кислотой.

Ведущими патогенетическими факторами при этом поражении является сочетание местного ожога пищеварительного тракта и внутрисосудистого гемолиза [13]. В результате массивной плазмопотери и гиповолемии, выраженной боли, метаболического ацидоза и ДВСК синдрома формируется острая недостаточность кровообращения, которая классифицируется как экзотоксический шок [7]. Летальность при экзотоксическом шоке у больных с острым отравлением уксусной кислотой составляет более 65 % [7]. Уже с первых часов отравления развиваются нарушения центральной гемодинамики с уменьшением ударного и минутного объемов, дилатацией предсердий [6]. Между тем роль повреждения самого миокарда в развитии острой недостаточности кровообращения у этой категории больных практически не изучена.

Целью настоящего исследования явилось изучение роли изменения уровня свободных жирных кислот и адениловых нуклеотидов крови больных с острым отравлением уксусной кислотой.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 72 больных с острым отравлением уксусной кислотой, которые находились на лечении в Краевом центре острых отравлений г. Читы в период 2005-2009 гг. 39 пациентов (15 мужчин и 24 женщины) со средней степенью тяжести и 33 (10 мужчин и 23 женщины) с тяжелой степенью отравления уксусной кислотой, из них у 19 развился экзотоксический шок. Средний возраст пациентов составил 31,6±11,6 года. Причиной острого отравления уксусной кислотой в 73% случаев явился суицид, а в 27% случаев случайное употребление яда. Доза принятой концентрированной уксусной кислотой варьировала от 20,0 до 100,0 мл. В контрольную группу вошли здоровые лица в количестве 15 человек сопоставимые по возрасту и полу. Все исследования проводились в динамике – в 1-2, 5-6 и 10-12 сутки заболевания.

В плазме крови определяли общий уровень свободных жирных кислот [12], общий уровень глицерола [17, 16]. Эритроциты служили объектом исследования АТФ [14] АДФ, АМФ [15].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью электронных таблиц «EXCEL-2000» [2, 5].

Результаты и обсуждение.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, на протяжении первых 2 –х недель отравления у больных с острым отравлением уксусной кислотой средней и тяжелой степени существенно увеличивалось содержание свободных жирных кислот (СЖК) в крови. Наибольшие показатели свободных жирных кислот зарегистрированы на 5-6 сутки нахождения больных в стационаре и выявлено различие ее уровня между пациентами средней и тяжелой степени отравления ($p<0,01$).

Содержание глицерола в крови больных с острым отравлением уксусной кислотой достоверно снижалось на протяжении стационарного наблюдения и было минимальным на 5-6 сутки отравления.

Следует отметить существенное повышение коэффициента СЖК/глицерол, который характеризует степень утилизации свободных жирных кислот миокардом [4, 10]. У больных средней тяжести этот показатель на 5-6 сутки отравления превышал таковой здоровых лиц в 3,6 раза, а у пациентов с тяжелым отравлением и экзотоксическим шоком почти в 5 раз.

Существенные изменения выявлены и в показателях макроэргических фосфатов эритроцитов больных с острым отравлением уксусной кислотой (табл. 2).

Уже с первых суток отравления уровень АТФ и АДФ достоверно снижался как у больных средней тяжести, так и тяжелых. Наименьшие показатели АТФ и АДФ определялись на 5-6 сутки отравления у пациентов с тяжелой степенью отравления и практически в 4,5 раза и 3,6 раза были меньше таковых здоровых лиц. Содержание же АМФ в эритроцитах больных с острым отравлением уксусной кислотой на протяжении 2 недель заметно увеличивалось, и было максимальным на 5-6 сутки (при тяжелых отравлениях в 2 раза больше показателей здоровых лиц).

Столь значимое увеличение в крови больных с острым отравлением уксусной кислотой свободных жирных кислот обусловлено многими причинами. Во-первых, острое отравление уксусной кислотой можно рассматривать как проявление тяжелого стресса [8], сопровождающееся выраженной симпатикотонией с активацией сывороточных липаз, выбросом свободных жирных кислот и интенсификацией процессов ПОЛ [9]. И, во-вторых, в результате метаболического ацидоза, выхода в плазму геминовых соединений, большого содержания продуктов ПОЛ, ДВСК – синдрома и, соответственно выраженной гипоксии [11], нарушаются окислительно-восстановительные процессы в митохондриях с развитием синдрома нарушения утилизации свободных жирных кислот и уменьшением образования АТФ. В свою очередь высокое содержание СЖК еще в большей степени разобщает процессы окислительного фосфорилирования, оказывая детергентное действие на митохондрии [11] со снижением содержания АТФ, что стимулирует гликолитические процессы [9].

Вывод. Таким образом, у больных с острым отравлением уксусной кислотой выявлено существенное повышение уровня СЖК с нарушением их утилизации миокардом и дисбалансом в составе макроэргических фосфатов.

Таблица 1

Содержание свободных жирных кислот и глицерола в сыворотке крови больных с острым отравлением уксусной кислотой в динамике, (M±SD)

Группы / Показатели	Контроль, n=15	Средняя степень отравления, n=38			Тяжелая степень отравления, n=28		
		1-2 сутки	5-6 сутки	10-12 сутки	1-2 сутки	5-6 сутки	10-12 сутки
СЖК, мкмоль/л	452,63 ± 32,34	683,24± 105,23*#	813,59± 188,66*#	511,2± 77,13*#	774,8± 147,32*#	970,53± 159,1*#	598,55± 58,9*
Глицерол, мкмоль/л	3,14± 0,37	2,15±0,35*#	1,53±0,52*#	2,62± 0,54 *#	1,83± 0,39*#	1,4±0,35*#	2,41± 0,33*#
СЖК/ глицерол (усл. ед)	146,91± 26,64	348,91± 87,3*#	534,75± 143,15*#	221,58± 69,37*#	452,93± 184,5*#	697,58± 144,76*#	253,83± 53,72*#

* - достоверность различий по отношению к контролю $p < 0,001$;

- достоверность различий между группами пациентов со средней степенью отравления и тяжелой степенью отравления $p < 0,01$

Таблица 2

Содержание макроэргических фосфатов в эритроцитах крови больных с острым отравлением уксусной кислотой в динамике, M±SD

Группы / Показатели	Контроль, n=15	Средняя степень отравления, n=38			Тяжелая степень отравления, n=28		
		1-2 сутки	5-6 сутки	10-12 сутки	1-2 сутки	5-6 сутки	10-12 сут-ки
АТФ, мкмоль/л	1,9±0,18	1,01±0,32*#	0,61±0,35*#	1,47±0,31*	0,8±0,25*#	0,41±0,16*#	1,28±0,27*
АДФ, мкмоль/л	1,59±0,2	0,67±0,18*	0,47±0,24*	1,41±0,4 *	0,76±0,2*	0,44±0,08*	1,34±0,3*
АМФ, мкмоль/л	1,05±0,1	1,32±0,54*#	1,79±0,35*#	1,21±0,2	1,83±0,5*#	2,11±0,44*#	1,34±0,3*

* - достоверность различий по отношению к контролю $p < 0,001$;

- достоверность различий между группами пациентов со средней степенью отравления и тяжелой степенью отравления $p < 0,01$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гаймоленко А.С. Алкогольный фактор в криминальной агрессии при психопатологический расстройств: дис. ... канд. мед. наук / А.С. Гаймоленко, Чита, 2008. – С.9-31.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
3. Говорин Н.В. Социальное поведение: типология и факторная обусловленность / Говорин Н.В., Сахаров А.В. – Чита, 2008. – 178 с.
4. Говорин А. В. Нестабильная стенокардия: вопросы патогенеза и принципы фармакотерапии с учётом психопатологических нарушений: Автореф. дис. докт. мед. наук. – М., 1991.
5. Зайцев В. М., Лифляндский В. Г., Маринкин В. И. Прикладная медицинская статистика. // Санкт-Петербург, 2003, 429 с.
6. Ильяшенко К.К. Нарушения центральной гемодинамики в раннем периоде острых отравлений кислотами и щелочами и их лечение: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1980.
7. Лужников Е.А. Острые отравления / Е.А. Лужников, Л.Г. Костомарова. – М.: Медицина, 2000. – 434с.
8. Лужников Е.А., Дагаев В.Н., Фирсов Н.Н. Основы реаниматологии при острых отравлениях. – М., 1977.
9. Меерсон Ф. З. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе ишемического повреждения и антиоксидантная защита сердца / Ф. З. Меерсон, В. Е. Коган, Ю. П. Козлов и др. // Кардиология. -1982. -№2. -С. 81-93.
10. Неверов И. В., Говорин А. В., Преображенский Т. М. Динамика лабораторных показателей при инфаркте миокарда. // Сов. медицина. - 1987. -№5. -С. 65-68.
11. Петрин И.Н., Применение γ - оксипутирата натрия и гутимида для уменьшения метаболических нарушений в сердце, вызванных экзотоксическим шоком при отравлении уксусной кислотой. // Петрин И.Н., Долгих В.Т., Кролевец И.П. // Вопросы медицинской химии. – 1993. – т. 39, №6. – С. 36 -39.
12. Прохоров М.Ю. Простой колориметрический микрометод определения свободных жирных кислот/ М.Ю. Прохоров, М.П. Тиунов, Д.А. Шакалис// Лабораторное дело. – 1977. - №9. – С. 535-536.
13. Сергеева Е.П. Экстракорпоральное очищение крови в лечении тяжелых отравлений уксусной кислотой / Е.П. Сергеева, А.А. Щербина, Л.М. Демина, С.А. Веселов// Клиническая медицина. – 2001. - №9. – С.53-57. .
14. Явербаум П.М. Методика определения АТФ в эритроцитах / П.М. Явербаум, Л.И. Издебская // Лабораторное дело. – 1986. - №1. – С. 32-34.
15. Bergmeyer H.U. Methods of enzymatic analysis / H.U. Bergmeyer. – Weinheim, Verlag, Chemie-1965. – 1963 p.
16. Rifai N, Warnick, G. R. Methods for Clinical Laboratory Measurements of Lipid and lipoprotein Risk Factors. Washington, DC, AACC Press, 1991. p. 324-357
17. Tietz, N. W. Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W. B Saunders Company; 1987 p. 809-861.

Sokolova N.A.
Dynamics of indicators of free fatty acids and macroergic phosphates in blood of patients with acute poisonings by acetic acid

State Medical Academy of Chita

Indicators of free fatty acids and macroergic phosphates were studied in dynamics in patients with acute poisoning by acetic acid. A significant increase of the free fatty acids level was found out which came up to maximum magnitudes 5 or 6 days after poisoning. An imbalance of macroergic phosphates was revealed.

Материал поступил в редакцию 18.05.2010 г.

УДК 572.2 : 575.8

Влияние генетического полиморфизма на цитогенетические последствия условий труда у рабочих на нефтепромыслах Сибири

Ильинских Н.Н.,
Ильинских И.Н.,
Ильинских Е.Н.,
Юркин А.Ю., Шиллов Б.В.

Сибирский государственный медицинский университет,
г. Томск

Анализ генотипа по генам биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1* и *GSTT1* позволил установить, что большая часть рабочих-нефтяников с нулевым (делетированным) аллелем гена *GSTM1* имеет повышенный уровень лимфоцитов крови с нарушениями в структуре и числе хромосом. К факторам способствующим возрастанию числа клеток с цитогенетическими нарушениями у них, по-видимому, возможно отнести не только мутагенную активность некоторых компонентов нефти, но и также экстремальные особенности трудовой деятельности человека на нефтепромыслах севера Сибири.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, рабочие-нефтяники, цитогенетические aberrации, Сибирь

Введение. Ранее нами было показано [7], что у некоторых рабочих-нефтяников, занятых в сфере нефтедобычи вахтовым режимом труда повышен уровень цитогенетических нарушений (микроядерный тест), при этом было высказано предположение, что нефть обладает генотоксическим действием. Прямые исследования проведенные рядом ученых [5, 10, 12, 19, 20, 25] позволили доказать, что нефть и ее дериваты обладают выраженным генотоксическим, кластогенным и анеугенным эффектом. При этом отмечен генетический полиморфизм людей по чувствительности к мутагенному действию некоторых компонентов нефти [4, 20]. Очевидно, что повышенная мутагенная чувствительность к генотоксическому действию нефти для рабочих-нефтяников является неблагоприятным прогностическим признаком состояния их здоровья и это, очевидно, следует учитывать при проведении медицинского обследования в процессе профессионального отбора для работы на нефтепромыслах рабочих-вахтовиков.

В связи с изложенным целью настоящей работы явилось изучение у рабочих-нефтяников, работающих на нефтепромыслах севера Томской и Тюменской областей, уровня цитогенетически aberrантных клеток с одновременной оценкой статуса организма по некоторым генетическим маркерам биотрансформации ксенобиотиков.

Методика исследования. Обследован 181 человек мужского пола в возрасте от 25 до 38 лет, занятые выполнением современных видов механизированного физического труда на нефтепромыслах севера Западной Сибири. Работа проведена в зимние месяцы в медпунктах вахтовых поселков при температурных условиях, близких к комфортным, через 1-2 часа после конца смены вахтового периода. В качестве контроля в тот же период времени в вахтовых по-

селках проведено обследование 152 человек непосредственно не занятых в процессах нефтедобычи (работники пищеблока, медработники и другой обслуживающий персонал).

В настоящем исследовании были обследованы только те лица, которые подписали добровольное информированное согласие относительно забора у них 20 мл крови с последующим определением содержания в крови уровня цитогенетически аномальных Т-лимфоцитов и наличия в клетках крови генетических маркеров ферментов биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1* и *GSTT1*. Помимо этого, в настоящей работе проведено анкетирование, позволяющее в первом приближении определить этническую принадлежность обследуемого донора. Лейкоциты периферической крови, полученные от работников, задействованных в сфере нефтедобычи, культивировали на протяжении 48 часов в среде RPMI-1640 с добавлением 20% фетальной сыворотки теленка и фитогемагглютинина («ПанЭко», г. Москва). После чего готовили хромосомные препараты стандартным способом [15]. При анализе учитывали все типы структурных aberrаций хромосом (кроме генов), а также число анеуплоидных и полиплоидных клеток. У каждого человека анализировали более 200 доступных для анализа клеток.

Среди генов, задействованных в системе детоксикации, были изучены два полиморфных варианта генов *GSTM1* и *GSTT1*, относительно которых имеются исследования, подтверждающие их протективную роль в отношении индукции ксенобиотиками хромосомных аномалий [4]. При анализе генов *GSTM1* и *GSTT1* на наличие делеций использовали мультиплексную ПЦР. В амплификационную пробу вносили две пары праймеров, что давало возможность одновременно амплифицировать фрагменты каждого из указанных генов. Разделение про-

дуктов амплификации генов *GSTM1* и *GSTT1* проводили в горизонтальном 3% агарозном геле, приготовленном на однократном трис-боратном буфере с добавлением бромистого этидия и визуализацией в проходящем УФ-свете. Напряженность электрического поля при разделении фрагментов ДНК составляла 1-8 В/см.

Ген *GSTM1* локализован в локусе хромосомы 1p13.3, длина амплифицированного фрагмента составляет 219 пар нуклеотидов, а *GSTT1* в 22q11.2 при длине 459 пар нуклеотидов. Нормальные аллели генов характеризуются присутствием ПЦР-продуктов: для *GSTM1* (гомозиготы *GSTM1* +/+ и гетерозиготы *GSTM1* +/-) для *GSTT1* (гомозиготы *GSTT1* +/- и гетерозиготы *GSTT1* +/-). Делеционные («нулевые») гомозиготные варианты (*GSTM1* 0/0 и *GSTT1* 0/0) выявлялись по отсутствию фрагментов *GSTM1* и *GSTT1*. Для генов *GSTM1* и *GSTT1* генотип 0/0 означает отсутствие на электрофореграмме фрагмента, соответственно, и данный индивидум гомозиготен по делеции. Значок «+» означает присутствие фрагмента и данный донор либо гетерозиготен, либо гомозиготен по отсутствию делеции в указанных генах. Данные о количестве обследованных работников нефтепромыслов и числе проанализированных цитогенетически метафаз представлены в таблице 1.

Все данные обрабатывали статистически с применением *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок и корреляционного анализа по Спирмену, используя пакет статистических компьютерных программ [17]. Различия сравниваемых результатов (χ^2 -т где χ – выборочное среднее арифметическое, m – ошибка среднего арифметического) считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Анализ уровня лимфоцитов периферической крови с нарушениями в числе и структуре хромосом в контрольной группе не выявил каких-либо существенных различий в связи с принадлежностью человека к тем или иным вариантам по генам *GSTM1* и *GSTT1*. В то же время полученные данные свидетельствуют (табл.2), что наблюдаются четко выраженные различия в уровне цитогенетических aberrаций в клетках крови у вахтовых рабочих-нефтяников в зависимости от их генотипа. Особенно существенно повышенным был уровень цитогенетических нарушений у рабочих с гомозиготным нулевым генотипом при совместном сочетании генов *GSTM1* и *GSTT1*. Достоверно повышенное число клеток с хромосомными нарушениями было также зарегистрировано и для рабочих с сочетанием *GSTM1* (0/0) и *GSTT1* (+). Среди наблюдаемых aberrаций наиболее часто встречались клетки с хроматидными фрагментами, но при этом возрастания числа клеток с хроматидными обменами не отмечено. Во всех случаях, за исключением лиц с сочетанием *GSTM1* (+) *GSTT1* (+) наблюдалось увеличение числа клеток с хромосомными фрагментами и обменами. У рабочих-нефтяников с гомозиготными нулевыми генотипами, а также при сочетании *GSTM1* (0/0) *GSTT1* (+) наряду с возрастанием числа клеток с aberrациями хромосом наблюдалось и увеличение числа анеуплоидных и полиплоидных Т-лимфоцитов. Большая часть анеуплоидных клеток (92,6%) была представлена моносомиями.

В научной литературе имеются данные свидетельствующие о том, что нулевые генотипы по глутатион-S-трансферазе (*GSTM1* и *GSTT1*) ассоциированы с более высоким уровнем хромосомных aberrаций [4, 20]. Полученные нами данные подтверждают это заключение в отношении нулевого генотипа *GSTM1*. Рабочие с нулевым генотипом *GSTM1* были особо чувствительны к генотоксическим факторам условий нефтедобычи. Анализ этнической принадлежности вахтовых рабочих-нефтяников свидетельствует о том, что среди них преобладают лица угро-финской группы народов или метисы угро-финской и славянской (в основном русские) групп. Согласно литературным данным, если среди русских количество лиц с нулевым генотипом по этому гену составляет 42,6 – 46,2%, то среди удмуртов, мордвы, чувашей (угро-финская группа), составляющих более 38% всех вахтовых рабочих-нефтяников этого региона, частота таких индивидуумов достигает 61,3% [1, 3]. Число рабочих-нефтяников на нефтепромыслах Западной Сибири с нулевым генотипом *GSTM1*, по нашим данным, составило 23,8%, в то же время в контрольной группе их было существенно больше. Поскольку нулевой генотип по этому гену значительно увеличивает вероятность возникновения ряда серьезных заболеваний [9, 14, 23], то не исключено наличие на нефтепромыслах «селекции» лиц с таким генотипом. Так анализ рабочего стажа на нефтепромыслах Сибири показал, что число рабочих-нефтяников с нулевым генотипом *GSTM1* в случаях наличия стажа от 1 до 3 лет особенно велико (46,2%), и этот показатель снижается практически в 3 раза (15,3%) в группе лиц проработавших на нефтедобыче более 10 лет.

Имеются исследования, показывающие генотоксическую роль курения [13, 21]. При этом установлено, что особенно существенные цитогенетические изменения наблюдаются у курильщиков именно с нулевым генотипом *GSTM1* [24]. В наших исследованиях анализ числа курящих и некурящих свидетельствует, что их частота практически одинакова в обследованных группах доноров и колеблется в пределах 38,2 – 40,4%. В то же время, действительно, уровень цитогенетических нарушений у лиц с нулевым генотипом *GSTM1* у курильщиков был достоверно выше ($p > 0,05$), чем у некурильщиков.

Полученные данные свидетельствуют, что у рабочих-нефтяников наряду с хроматидными имеет место повышение и числа aberrаций хромосомного типа, среди которых наблюдались дицентрические хромосомы и кольца. Известно, что такие aberrации характерны для радиационного воздействия [16]. Этому феномену возможны следующие объяснения. Доказано, что из скважин вместе с нефтью на поверхность в значительных объемах поступает радиоактивный газ – радон, мутагенное действие которого хорошо доказано [6]. В своей работе Березин и Горбачев [2] подчеркивают, что при добыче нефти с пластовыми водами извлекаются нефтешламы с повышенным содержанием радионуклидов уранового и ториевого ряда, кроме того для контроля целостности трубопроводов на предприятиях нефтегазового комплекса широко применяются методы рентгеновской и радионуклидной дефектоскопии, что может приводить к облучению персонала дозами, превышающими предельно допустимые уровни. Наряду с этим следует отметить, что северные районы Тюменской и Томской областей неоднократно накрывали радиоактивные осадки в результате атомных испытаний на Новоземельском полигоне и имеются свидетельства радиоактивности ягеля и мяса оленей [6, 22], что также может приводить в клетках человека к возникновению aberrаций хромосомного типа, о чем свидетельствуют результаты цитогенетического обследования коренных народов севера Сибири [22].

Несомненно, что в экстремальных условиях нефтедобычи на севере Западной Сибири имеется множество факторов, которые могут оказывать как мутагенное, так и комутагенное действие на генетический аппарат человека. Помимо антропогенных факторов это и природные факторы: низкие температуры, мощные геомагнитные поля авроральной

зоны, геомагнитные аномалии, особенности светового режима (полярные ночь и день) и дефицит некоторых жизненно важных микроэлементов [8, 11].

Выводы.

1. Установлено, что при наличии в генотипе человека, работающего вахтовым режимом труда на севере Сибири делетированной (нулевой) формы аллеля гена *GSTM1*, наблюдается увеличение в периферической крови числа лимфоцитов с нарушениями в числе и структуре хромосом.

2. Повышенный уровень цитогенетических нарушений, выявленный при обследовании рабочих-нефтяников, является, по-видимому, результатом суммарного действия различных факторов на генетический аппарат человека. При этом речь идет не только о воздействии компонентов нефти, обладающих мутагенным действием, но и факторов самой разнообразной природы как природного так и антропогенного происхождения характерных для севера Сибири.

3. Результаты исследования позволяют сделать также вывод о настоятельной необходимости введения новых, научно обоснованных критериев отбора персонала на нефтепромыслах Западной Сибири, существенную роль в котором должны сыграть данные генотипирования.

Таблица 1

Частоты вариантов генотипов *GSTM1* и *GSTT1* и число проанализированных метафаз в клетках крови у обследованных работников нефтепромыслов

Количество изученных метафаз в клетках обследованных работников нефтепромыслов	Генотипы			
	<i>G S T M 1</i> (0/0) <i>GSTT1</i> (0/0)	<i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (0/0)	<i>G S T M 1</i> (0/0) <i>GSTT1</i> (+)	<i>G S T M 1</i> (+) <i>GSTT1</i> (+)
Рабочие занятые непосредственно в процессах нефтедобычи				
n = 181	23	59	20	79
Число изученных метафаз	5645	11870	5470	13467
Работники нефтепромыслов не занятые непосредственно в процессах нефтедобычи (контроль)				
n= 152	48	34	36	34
Число изученных метафаз	9648	6868	7236	6834

Число лимфоцитов периферической крови с хромосомными нарушениями ($X \pm m$) у рабочих-нефтяников на нефтепромыслах Западной Сибири и в контроле в зависимости от наличия у обследованных лиц сочетания вариантов генов биотрансформации ксенобиотиков GSTM1 и GSTT1

Число клеток цитогенетическими нарушениями, %	Генотипы			
	GSTM1 (0/0) GSTT1 (0/0)	GSTM1 (+) GSTT1 (0/0)	GSTM1 (0/0) GSTT1 (+)	GSTM1 (+) GSTT1 (+)
Всего с абберациями хромосом	$6,87 \pm 1,59^*$ 1,99 ± 0,44	$2,68 \pm 0,54$ 2,35 ± 0,49	$6,44 \pm 0,73^*$ 1,82 ± 0,62	$1,95 \pm 0,60$ 2,29 ± 0,41
с одиночными фрагментами	$4,54 \pm 0,78^*$ 1,39 ± 0,39	$1,36 \pm 0,39$ 1,59 ± 0,28	$5,00 \pm 0,56^*$ 1,38 ± 0,34	$1,41 \pm 0,44$ 1,47 ± 0,37
с хроматидными обменами	$0,81 \pm 0,23$ 0,26 ± 0,18	$0,24 \pm 0,16$ 0,61 ± 0,14	$0,40 \pm 0,18$ 0,22 ± 0,10	$0,21 \pm 0,11$ 0,72 ± 0,21
с двойными фрагментами	$0,77 \pm 0,16^{**}$ 0,27 ± 0,12	$0,41 \pm 0,20^{**}$ 0,14 ± 0,07	$0,55 \pm 0,12^{**}$ 0,21 ± 0,08	$0,32 \pm 0,12$ 0,22 ± 0,19
с хромосомными обменами	$0,69 \pm 0,18^{**}$ 0,11 ± 0,05	$0,59 \pm 0,08^{**}$ 0,14 ± 0,09	$0,64 \pm 0,10^*$ 0,12 ± 0,05	$0,13 \pm 0,09$ 0,09 ± 0,05
с анеуплоидным набором хромосом	$1,33 \pm 0,28^*$ 0,42 ± 0,21	$0,74 \pm 0,40$ 0,62 ± 0,30	$1,49 \pm 0,19^*$ 0,42 ± 0,13	$0,41 \pm 0,12$ 0,47 ± 0,28
с полиплоидным набором хромосом	$0,69 \pm 0,14^{**}$ 0,21 ± 0,10	$0,29 \pm 0,12$ 0,07 ± 0,04	$0,80 \pm 0,11^*$ 0,23 ± 0,10	$0,22 \pm 0,14$ 0,38 ± 0,12
Всего с цитогенетическими нарушениями	$8,46 \pm 1,82^*$ 2,18 ± 0,49	$3,61 \pm 0,50$ 3,08 ± 0,77	$7,94 \pm 1,11^*$ 2,28 ± 0,61	$2,36 \pm 0,68$ 3,02 ± 0,48

Примечание: В числителе приведены данные показателей для рабочих-нефтяников, а в знаменателе (жирный шрифт) для лиц непосредственно не занятых в процессе нефтедобычи (контроль). Достоверные отличия от контроля отмечены: ** $p < 0,05$ и * $p < 0,01$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов В.С., Иващенко Т.Э., Швед Н.Ю., Ярмолинская М.И., Сельков С.А., Горбушин С.М., Савицкий Г.А., Малет П., Канис М., Брюа М., Баранова Е.В. Генетические факторы предрасположенности и терапии эндометриоза // Генетика. - 1999. - Т.35. - №2. - С.243-248.
2. Березин И.И., Горбачев Д.О. Радиационно-гигиенические аспекты труда на предприятиях нефтегазового комплекса // Фундаментальные науки и практика. - 2010. - Т.1. - №3. - С. 12-15.
3. Вахитова Ю.В., Султанаева З.М., Викторова Т.В., Бикмаева А.Р., Хуснутдинова Э.К. Анализ полиморфизма гена глутатион-S-трансферазы в популяциях Волго-уральского региона // Генетика. - 2001. - Т.37. - №2. - С.268-270.
4. Григорьева С.А. Изучение генетически обусловленной чувствительности к действию мутагенов окружающей среды в индуцированном мутагенезе на клетках человека: Автореф. дис. ... канд. биол. наук М., 2007. 26 с.
5. Журков В.С., Ахальцева Л.В., Неякина Е.В., Русаков Н.В., Крятов И.А., Тонкопий Н.И., Карцева Н.Ю. Анализ мутагенной активности водных и буферных экстрактов образцов почв, загрязненных нефтью // Гигиена и санитария. - 2009. - №3. - С. 57-60.
6. Ильинских Н.Н., Булатов В.И., Адам А.М., Смирнов Б.В., Плотникова Н.Н., Иванчук И.И. Радиационная экотоксикация России. - Томск: «Печатный двор». - 1998, 292 с.
7. Ильинских Н.Н., Медведев М.А., Погапова П.М., Перенчаев Л.Я., Уразаев А.М., Кудрявцев Д.П. Комплексное изучение различных параметров патогенетического и физиологического статуса здоровья у рабочих в нефтедобывающей промышленности // Гиг. и санит. - 1989. - №12. - С. 18-21.
8. Ильинских Н.Н., Огородова Л.М., Безруких Л.А. Эпидемиологическая генотоксикология тяжелых металлов и здоровье человека. - Томск: Издательство СибГМУ, 2003. - 300 с.
9. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б. Активированные кислородные метаболиты в моноокислительных реакциях // Биолетень СО РАМН - 2005. - №4. - С.118-119.
10. Русаков Н.В., Крятов И.А., Коганова З.И., Митславский О.Н., Евсеева И.С. Кожно-резортивное действие нефти на некоторые биохимические и иммунологические показатели организма экспериментальных животных // Гиг. и санит. - 2011. - №1. - С. 86-88.
11. Собакин А.К. Работоспособность вахтового персонала газовых промыслов в экстремальных условиях Севера: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Новосибирск, 2004. 25 с.
12. Araújo A.E., Mezzomo V.P., Ferrari I. Genotoxic effects caused by indoor exposure to petroleum derivatives in a fuel quality control laboratory // Genet Mol Res. - 2010. - Vol 9(2). - P.1069-1073.
13. Bala-Krishna M.P. Frequency of sister chromatid exchanges in cigarette smokers // Human. Genet. - 1979. - Vol.52 - P.343-345.
14. Baranov V.S. In: K.Berg, V.Bulyjnenkov, Y.Christen (Eds) "Genetic approaches to Noncommunicable Diseases" // Springer-Verlag. 1996. - P.105 -112.
15. Buckton K.E., Evans H.I. Methods for the analysis of human chromosome aberrations. - Geneva: WHO, 1973. - 124 p.
16. Edwards A.A., Lloid D.C., Prosser J.S. Chromosome aberrations in human lymphocytes - a radiobiological review. London: Academic Press, 2000. - 432 p.
17. Institute Inc. SAS/STAT User's Guide, Version 6. Cary NC. N.Y.: SAS Institute Inc., 1989. - P.24.
18. Khalil A.M. Chromosome aberrations in blood lymphocytes from petroleum refinery workers // Arch Environ Contam Toxicol. - 1995. - Vol.28(2). - P.236-239.
19. Kim Y.J., Choi J.Y., Paek D. Association of the NQO1, MPO, and XRCC1 polymorphisms and chromosome damage among workers at a petroleum refinery // J. Toxicol Environ Health. - 2008. - Vol.71(5). - P.333-341.
20. Kumar M., Chauhan L.K., Paul B.N. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphism in north Indian population and its influence on the hydroquinone-induced in vitro genotoxicity // Toxicol Mech Methods. - 2009. - 19(1). - P.59-65.
21. Larramendy M.L., Knuutila S. Increased frequency of micronuclei in B and T8 lymphocytes from smokers // Mutat Res. - 1991. - 259(2). - P. 189-195.
22. Osipova L.P., Posukh O.L., Koutzenogii K.P., Sukhorukov F.V., Matveeva V.G., Grafodatskii A.S., Konovalova N.A., Sukhovey Y.G., Petrov S.A., Lefranc G., Lefranc M.-P. Epidemiological studies for the assessment of risks from environmental radiation on Tundra Nentsi population // NATO Science Series 2: Environmental Security. Fundamentals for the assessment of risks from environmental radiation. - 1999. - Vol. - 1999. - P. 35-42.
23. Peng D.X., He Y.L., Qiu L.W. // Association between glutathione S-transferase M1 gene deletion and genetic susceptibility to endometriosis // Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao. - 2003. - Vol.23(5). - P.458-459.
24. Scarpato R., Hirvonen A., Migliore L. Influence of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on the frequency of chromosome aberrations in lymphocytes of smokers and pesticide-exposed greenhouse workers // Mutat Res. - 1997. - Vol.389(2-3). - P.227-235.
25. Yang J.K., Jun Y.C., Yoon H.C. Micronucleus-centromere assay in workers occupationally exposed to low level of benzene // Hum. Exp. Toxicol. - 2010. - Vol. 29(5). - P. 343-350.

Ilyinskikh N.N., Ilyinskikh I.N., Ilyinskikh Ye.N., Yurkin A.Yu., Shilov B.V.

Impact of genetic polymorphism on cytogenetic consequences of working conditions in oil field workers in Siberia

Siberian State Medical University, Tomsk

The analysis of genotype basing on genes of xenobiotics biotransformation GSTM1 and GSTT1 allowed to establish that most oil field workers with zero (deleted) allele of the GSTN1 gene have an increased level of blood lymphocytes with impairments in the chromosomes structure and number. To the factors contributing to an increased amount of cells with disturbances it is likely to refer not only mutagenic activity of certain oil components but also extreme particularities of working activity in the Northern Siberia oilfields.

Материал поступил в редакцию 03.08.2010 г.

УДК 615.03 + 615.91

Изучение эффективности комбинации дитионита, кеторолака и кофеина на модели тяжелого отравления крыс этанолом

Курпякова А.Ф., Быков В.Н., Чепур С.В., Юдин М.А., Никифоров А.С.

Научно-исследовательский испытательный центр (медико-биологической защиты) ФГУ «ГосНИИВМ Минобороны России», г. Санкт-Петербург

Терапия острых отравлений этанолом с использованием трехкомпонентной рецептуры, включающей дитионит натрия (10 мг/кг), кофеин (17,5 мг/кг) и кеторолак (5 мг/кг) достоверно уменьшает период восстановления двигательной активности и тяжесть интоксикации при относительной безопасности комбинации для крыс. Использование данной комбинации ускоряет элиминацию ацетальдегида у отравленных животных.

Ключевые слова: терапия острых отравлений, этанол

Введение. В настоящее время накоплены значительные данные о механизмах действия этанола, однако, сохраняется актуальность создания многокомпонентной рецептуры, воздействующей на патогенетически значимые механизмы токсического действия этанола. Необходимость таких работ определяется доказанным рецепторным действием этанола [6].

Высокий интерес представляет исследование эффективности и разработка комбинаций препаратов, обладающих психостимулирующими и аналептическими эффектами, с препаратами, влияющими на метаболизм этанола. Перспективным считается использование комбинации кофеина [4] и нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), действие которых обуславливает модуляцию (в низких дозах) или полную неконкурентную блокаду ГАМК-

рецепторов (в высоких дозах) [1]. В настоящем исследовании выбор кеторолака из группы НПВС обусловлен, прежде всего, его выраженной аналептической активностью [5, 8].

Цель исследования состояла в изучении характеристик эффективности комбинации кофеина, кеторолака и дитионита натрия.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 350 нелинейных белых крысах-самцах, массой 180-240 г, содержащихся в условиях вивария в соответствии с «Правилами лабораторной практики (Приказ Минздравоохранения России от 23 августа 2010 г. № 708н). Острое отравление вызвали внутривенным (в/в) введением 33 % раствора этанола в дозе 0,75 ЛД₅₀ (3 г/кг), что обуславливало развитие картины тяжелого отравления.

Растворы лечебных препаратов готовили ex tempore и вводили внутривенно (в/в) через 15 мин после интоксикации этанолом. Дозы препаратов для животных рассчитывали с учетом высших суточных и разовых доз для человека, пересчитанных на животных в соответствии с методом И. Улановой [2, 10]. Крысам контрольной группы в/в вводили воду для инъекций.

Для оценки эффективности терапии использовали интегральную шкалу [1] в нашей модификации: 1 балл – легкое нарушение координации («заваливание»); 2 балла – отчетливое «заваливание», незначительная «распластанность» на скользком полу; 3 балла – отчетливая «распластанность» на скользком полу, положительная проба на провисание; 4 балла – способность к передвижению ограничена при сохранении физиологической позы; 5 баллов – боковое положение. Выраженность наркотического действия выражали как сумму баллов для каждого животного за весь период наблюдения.

Определение концентрации ацетальдегида в плазме крови выполняли через 1, 2, 4, 6, 24 ч после введения этанола с использованием 2,4-ДНТФГ на жидкостном хроматографе Agilent 1100 Series [9]. Концентрацию этанола в крови определяли энзиматическим методом, основанном на расщеплении алкогольдегидрогеназой этанола в присутствии НАД⁺ до ацетальдегида [7]. Оптическую плотность растворов измеряли через 5, 15, 30 мин и 1, 2, 4, 6, 8 ч после введения этанола на спектрофотометре Hitachi U-2900 при длине волны 340 нм.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием t-критерия Стьюдента и теста Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Полученные данные свидетельствуют, что лечение дитионитом натрия (10 мг/кг) не оказывало влияния на показатели, характеризующие мышечный тонус и двигательную активность крыс после отравления этанолом в дозе 3 г/кг (табл.1).

Таблица 1

Влияние терапии на тяжесть наркотического действия (сумма баллов) этанола после в/в введения в дозе 3 г/кг (M±mM)

Экспериментальные группы	Сумма баллов	Переворот, мин	Восстановление двигательной активности, мин	Гибель, %
контроль (n=13)	41,3±1,33	77,7±12,43	129,2±15,38	7,7
дитионит натрия 10 мг/кг (n=6)	41,8±1,35	73,8±10,45	124,3±16,38	16,7
дитионит 10 мг/кг + кофеин 35 мг/кг (n=6)	38,2±1,62	55,0±10,62	84,5±13,32	33,3
дитионит 10 мг/кг + кеторолак 7,5 мг/кг (n=6)	38,8±0,98	58,2±6,57	79,7±12,93*	50,0
дитионит 10 мг/кг + кеторолак 7,5 мг/кг + кофеин 35 мг/кг (n=7)	34,4±0,90***	27,0±2,31**	57,9±6,06***	42,9

Примечание:

- * - различия с животными группы контроля достоверны при $p \leq 0,05$;
- ** - различия с животными группы контроля достоверны при $p \leq 0,01$;
- *** - различия с животными группы контроля достоверны при $p \leq 0,001$

При лечении отравленных животных комбинацией препаратов, содержащей дитионит натрия (10 мг/кг) и кофеин (35 мг/кг), регистрировали уменьшение продолжительности этанол-индуцированного сна, тяжесть состояния уменьшалась в среднем на 7,5 % по отношению к животным контрольной группы и на 8,9 % по отношению к животным, получавшим дитионит натрия.

Наиболее выраженное действие оказывала комбинация препаратов, состоящая из дитионита натрия (10 мг/кг), кофеина (35 мг/кг) и кеторолака (7,5 мг/кг). Достоверное увеличение скорости восстановления мышечного тонуса у крыс определяли уже через 1 ч после интоксикации этиловым спиртом. Положительная динамика сохранялась в течение 4 ч и проявлялась снижением тяжести алкогольного отравления с 41,3±1,33 баллов до 34,4±0,90 баллов (при $p \leq 0,001$) по отношению к контролю. Период восстановления физиологического положения и двигательной активности укорачивался более чем в 2 раза, что могло быть обусловлено взаимодействием кеторолака и кофеина по типу синергизма. Несмотря на положительные эффекты в отдаленном периоде после отравления отмечали гибель 42,9 % крыс, что определило необходимость оптимизации состава трехкомпонентной комбинации.

Для детального изучения вклада каждого компонента комбинации и поиска безопасной рецептуры проведены скрининговые исследования с различным соотношением кофеина и кеторолака (табл. 2). Выраженность наркотического действия алкоголя у крыс при использовании комбинаций с нарастающей дозой кофеина уменьшалась. Достоверное снижение тяжести отравления у животных за период наблюдения отмечали после применения комбинаций с содержанием кофеина в дозах 17,5 и 25 мг/кг.

Введение комбинаций с концентрацией кофеина 17,5 мг/кг способствовало регрессии симптомов острого отравления этанолом крыс, при этом наилучшей была композиция с содержанием кеторолака - 5,0 мг/кг. Сумма баллов снижалась в среднем на 13,8 % (при $p \leq 0,001$), время выхода из наркотического сна - на 33,5 % (при $p \leq 0,05$) и восстановление двигательной активности - на 39,3 % (при $p \leq 0,01$) по отношению к животным контрольной группы.

Таблица 2

Влияние комбинаций средств с различными соотношениями кеторолака и кофеина на тяжесть наркотического действия (сумма баллов) этанола (3 г/кг) после в/б введения крысам ($M \pm mM$)

Экспериментальные группы		Сумма баллов	Перевоорот, мин	Восстановление двигательной активности, мин	Гибель, %
контроль (n=13)		44,9±1,07	87,2±11,61	162,7±14,19	15,4
дитионит 10 мг/кг + кофеин 10 мг/кг	кеторолак 2,5 мг/кг	44,0±0,71	63,0±4,02	157,5±14,36	16,7
	кеторолак 5,0 мг/кг	42,5±0,89	53,5±6,32*	140,0±16,28	16,7
	кеторолак 7,5 мг/кг	43,3±0,99	59,0±6,51*	131,7±15,24	16,7
дитионит 10 мг/кг + кофеин 17,5 мг/кг	кеторолак 2,5 мг/кг	39,8±0,65***	65,3±6,57	100,0±9,22**	16,7
	кеторолак 5,0 мг/кг	38,7±1,12***	58,0±4,23*	98,8±10,57**	16,7
	кеторолак 7,5 мг/кг	40,7±0,99*	63,0±6,52	102,7±8,45**	33,3
дитионит 10 мг/кг + кофеин 25 мг/кг	кеторолак 2,5 мг/кг	39,6±1,52*	61,5±6,14	96,7±4,99***	16,7
	кеторолак 5,0 мг/кг	38,3±0,76***	54,2±6,82*	93,2±6,74***	33,3
	кеторолак 7,5 мг/кг	39,3±0,99**	56,0±2,99*	96,8±5,80***	33,3

Примечание:

- * - различия с животными группы контроля достоверны при $p \leq 0,05$;
- ** - различия с животными группы контроля достоверны при $p \leq 0,01$;
- *** - различия с животными группы контроля достоверны при $p \leq 0,001$;
4. в каждой опытной группе – 6 животных

При лечении композицией с содержанием кофеина (17,5 мг/кг) и кеторолака (2,5 мг/кг) выявляли менее значимые эффекты, тогда как с увеличением дозы кеторолака до 7,5 мг/кг общее состояние животных несколько ухудшалось и сказывалось на показателе выживаемости.

Лечение отравленных животных комбинациями, содержащими кофеин (25 мг/кг), способствовало уменьшению периода этанол-индуцированного сна. Однако, несмотря на достоверное снижение тяжести отравления в отдаленный период интоксикации (28 сут), увеличивалась частота гибели опытных животных, что позволяет судить о недостаточной безопасности таких комбинаций.

Учитывая полученные данные об эффективности и безопасности, для дальнейших исследований по оценке влияния на метаболизм этанола была отобрана комбинация дитионит 10 мг/кг + кофеин 25 мг/кг + кеторолак 2,5 мг/кг.

У интактных крыс концентрация этанола в крови соответствовала 0,15±0,03 г/л. Максимальные значения этанола в крови животных наблюдали через 5 мин после его в/б введения. Значимое снижение концентрации спирта регистрировали в течение 120 мин (рис. 1). В дальнейшем уменьшение концентрации этанола происходило более плавно, и к 1 сут оно не отличалось от показателей крыс интактной группы (0,12±0,012 г/л).

Введение дитионита натрия (10 мг/кг) не оказывало влияния на фармакокинетику этанола в крови, тогда как при аппликации комбинации средств наблюдали тенденцию к ускорению эли-

минации этилового спирта.

Максимальную концентрацию ацетальдегида ($1,11 \pm 0,226$ мкг/мл) в плазме крови отравленных животных наблюдали через 1 ч после введения этанола. У интактных животных этот показатель составил в среднем $0,05 \pm 0,006$ мкг/мл. Через 24 ч полученные показатели не отличались от значений интактных крыс.

Терапия дитионитом натрия (10 мг/кг) сопровождалась достоверным снижением концентрации ацетальдегида в плазме крови отравленных крыс через 1 ч до $0,57 \pm 0,042$ мкг/кг, несмотря на незначительный подъем показателя на ранних сроках (рис. 2).

Введение комбинации способствовало незначительному приросту содержания ацетальдегида через 30 мин после отравления (15 мин после лечения), в последующие сроки отмечали тенденцию к быстрому снижению этого показателя. Данный эффект, очевидно, может быть связан с ускорением биотрансформации этанола и связыванием ацетальдегида дитионитом натрия.

Выводы.

1. Перспективным направлением терапии острых отравлений этанолом является использование трехкомпонентной комбинации, включающей дитионит натрия, кофеин, кеторолак.
2. Введение дитионита натрия (10 мг/кг), кофеина ($17,5$ мг/кг) и кеторолака (5 мг/кг) достоверно уменьшает период восстановления двигательной активности и тяжесть интоксикации этанолом при относительной безопасности рецентуры.
3. Введение комбинации ускоряет элиминацию ацетальдегида у отравленных животных.

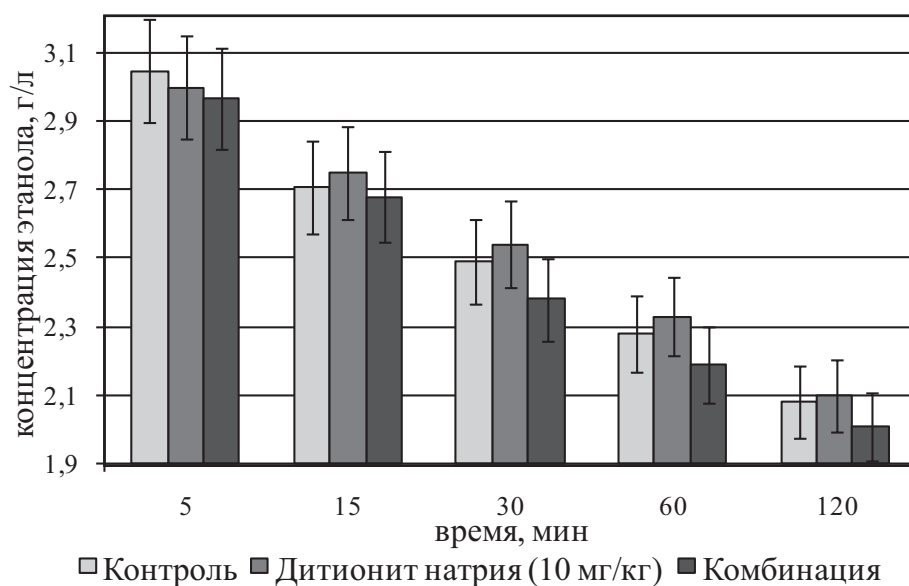


Рис. 1 – Влияние терапии на динамику изменения концентрации этанола в крови отравленных крыс

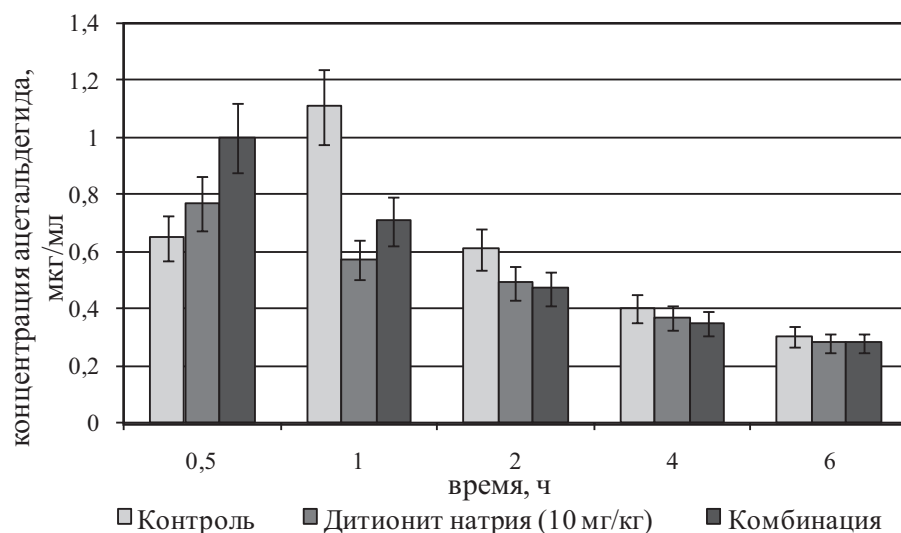


Рис. 2 – Влияние терапии на динамику изменения концентрации ацетальдегида в плазме крови отравленных крыс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нужный В.П., Демешина И.В., Забирова И.Г. [и др.] // Токсикол. вестник. – 1999. – № 2. – С. 2-8.
2. Хабриев Р.У. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
3. Akaike N., Shirasaki T., Yakushiji T. // J. neurophysiol. – 1991. – № 66. – P. 497-504.
4. Broderick P., Benjamin A.B. // J. okla. state med. assoc. – 2004. – Vol. 97, № 12. – P. 538-542.
5. Forrest J.B., Camu F., Greer I.A. [et al.] // Br. J. anaesth. – 2002. – Vol. 88, № 2 - P. 227-233.
6. Harris R.A., Trudell J.R., Mihic S.J. // Sci signal. – 2008. – Vol. 1, № 28. – P. 7-10.
7. Jones D., Gerber L.P., Drell W. // Clin. chem. – 1970. – Vol. 16. – P. 402.
8. Lieh-Lai M.W., Kauffman R.E. // Crit. care med. – 1999. – Vol. 27, № 12. - P. 2786-2791.
9. Saczk A.A., Okumura L.L., Firmino de Oliveira M. [et al.] // Anal. bioanal. chem. – 2005. – Vol. 381, № 8. – P. 1619-1624.
10. Ulanova I.P. Sanotskii I.V., Khalepo A.I. [et al.] // Gig. Tr. Prof. Zabol. – 1969. – Vol. 13, № 7. – P. 22-25.

Kurpyakova A.F., Bykov V.N., Chepur S.V., Yudin M.A., Nikiforov A.S.

Examination of the effectiveness of a combination of dithionite, ketorolac and caffeine on the model of a rat heavy poisoning by ethanol

Research and Testing Center for Medical-Biological Defense, State Institute of Military Medicine, St.Petersburg

The therapy of acute poisonings by ethanol using a three-component formulation including sodium dithionite, (10 mg/kg), caffeine (17.5 mg/kg) and ketorolac (5 mg/kg) authentically decreases a rehabilitation period for motor activity and severity of intoxication at a relative safety of the combination to rats. The use of this combination accelerates elimination of acetaldehyde in poisoned animals.

Материал поступил в редакцию 06.09.2010 г.

УДК 546.47/49 : 591.4

Содержание металлотиионеинов в печени и почках крыс разного возраста при внутрибрюшинном введении нитрата кадмия

Обнаружены существенные различия в содержании МТ и кадмия в печени и почках крыс разного возраста при внутрибрюшинном введении раствора нитрата кадмия в дозах 0,5 и 2 мг/кг по иону-металла. У 60 недельных животных отмечали более низкий уровень МТ в органах, чем у 40 недельных, а содержание кадмия было выше. С возрастанием дозы воздействия эти различия усугублялись. Предполагается, что воздействие металла в больших дозах выявляет эффект ослабления компенсаторно-защитных возможностей организма с увеличением возраста.

Ключевые слова: кадмий, крысы, печень, почки, металлотиионеины

Кобялко В.О., Мирзоев Э.Б., Губина О.А., Фролова Н.А., Ратникова Л.И., Анисимов В.С.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН, г.Обнинск

Введение. Кадмий и его соединения, попадая в окружающую среду вследствие активного использования в промышленном производстве, вносят существенный вклад в формирование техногенного загрязнения [6]. Высокая кумулятивная способность и низкая скорость экскреции способствуют интенсивному накоплению металла в органах-мишенях (печень, почки) млекопитающих, как при хроническом, так и остром характере воздействия [7]. Механизм детоксикации кадмия в организме животных обусловлен связыванием его ионов с металлотиионеинами (МТ) - специфическими низкомолекулярными белками, которые синтезируются в ответ на поступление токсиканта [12]. Превышение уровня эффективного связывания ионов металла приводит к развитию повреждений в клетках органов и тканей [3], которые при достаточно высоких дозах становятся фатальными. При этом цитотоксическое действие обусловлено активацией процесса перекисного окисления липидов и нарушением структурно-функционального состояния белков-ферментов [10, 18, 16]. Предполагалось, что в случае острого воздействия гибель млекопитающих наступает от Cd-индуцированной кардио- и нефротоксичности [11]. Но впоследствии было показано, что летальный исход является следствием глубокого поражения печени, которое определяется недостаточностью синтеза МТ,

необходимого для полноценной инактивации поступающих в орган ионов кадмия [4]. Вместе с тем, величина ЛД₅₀, даже у животных в пределах одного вида, может существенно изменяться в зависимости от физиологического состояния, возраста, пола и др. факторов [17, 9, 8, 15].

Целью настоящей работы стала оценка содержания МТ в критических органах (печень, почки) 40 и 60 недельных крыс при внутрибрюшинном введении кадмия в дозах 0,5 и 2 мг/кг.

Материалы и методы исследования. Эксперименты были проведены в соответствии с требованиями "Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных" (Приказ Минздрава России №267 от 19.06.2003 г.) на 44 крысах линии "Вистар" сорока и шестидесяти недельного возраста в условиях вивария Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН. Животных содержали на стандартном рационе ООО "МЭСТ" (ГОСТ Р 50258-92). Живая масса крыс в возрасте 40 недель составляла 388±35 г, 60 недель - 525±27 г.

Подопытным животным раствор нитрата кадмия вводили внутрибрюшинно в дозах по иону металла - 0,5 и 2 мг/кг, а контрольным - нитрата калия, в соответствующих дозах по нитрат-иону.

Отбор образцов органов у крыс, усыпленных эфирным наркозом, осуществляли на 1-е и 5-е сутки после воздействия. Каждая экспериментальная точка объединяла данные от 4 – 6 крыс.

Содержание кадмия определяли методом спектрометрии [2], а металлотионеинов (MT) - радиохимическим кадмий-гемоглобиновым методом [5], который основан на замещении ионов металлов, хелатируемых в MT, радионуклидом ^{106}Cd .

Обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента [1].

Результаты и обсуждение. Поступление кадмия в органы экспериментальных крыс сопровождается индукцией синтеза MT. На 1-е сутки после внутрибрюшинного введения металла в дозе 0,5 мг/кг содержание MT в печени 40 недельных животных возросло в 9,9 раз, а у 60 недельных - 7,2 раза (рис.1). С увеличением дозы воздействия значение показателя было выше контроля в 21 и 12 раз, соответственно. При этом содержание MT у 60 недельных крыс было достоверно ниже, чем у более молодых животных. На 5-е сутки исследования значение показателя было увеличено относительно контроля до 9 раз при воздействии в дозе 0,5 мг/кг и до 12,5 раз – в дозе 2 мг/кг. Достоверных различий у животных разных возрастных групп в это время не отмечали.

В почках при воздействии в дозе 0,5 мг/кг содержание MT достоверно возросло на 5-е сутки исследования. У 40 недельных крыс значение показателя было повышено в 1,9 раза, а у 60 недельных – 1,6 раз (рис.2). С увеличением дозы кадмия рост уровня MT наблюдался уже с первых суток исследования в обеих возрастных группах, но у более молодых животных регистрировали большую величину изменения показателя - в 4,9 раз на 5-е сутки.

Оценка содержания кадмия в печени и почках при внутрибрюшинном введении в дозах 0,5 и 2 мг/кг выявила достоверное повышение уровня металла в органах (табл.). На 1-е сутки после воздействия в дозе 0,5 мг/кг содержание кадмия в печени 40 недельных крыс возросло в 331 раз, а у 60-и недельных - в 600 раз. С увеличением дозы до 2 мг/кг отмечали рост значений показателя в 375 и 1576 раз, соответственно. Сравнение уровней накопления кадмия у подопытных животных разного возраста обнаружило достоверные различия. При воздействии в дозе 0,5 мг/кг содержание металла в печени 40 недельных крыс было в 1,4 раза меньше, чем у 60 недельных, а 2 мг/кг - в 3,2 раза. На 5-е сутки исследования наблюдали снижение его уровня в печени при сохранении достоверных различий между животными разных возрастных групп.

При определении содержания кадмия в почках крыс, рост значений показателя на 1-е сутки после воздействия в дозе 0,5 мг/кг достигал 22 раз, а в дозе 2 мг/кг - 82 раз. У 40 недельных животных регистрировали более низкий уровень накопления металла. В отличие от печени, в почках на 5-е сутки наблюдали увеличение концентрации кадмия ($p < 0,05$). Различия значений между животными разного возраста были достоверны.

Обнаруженные изменения содержания MT в критических органах крыс, подвергнутых острому воздействию кадмия, подтверждают роль этих белков в связывании и детоксикации ионов металла [13]. Сравнительный анализ полученных данных выявил заметный дисбаланс уровней MT и кадмия в печени и почках животных разного возраста. При воздействии металла в дозе 0,5 мг/кг различия в содержании MT в печени 40 и 60 недельных крыс незначительны и, в обоих случаях, синтезируемого количества белка достаточно для успешной инактивации ионов кадмия. В то же время, повышение дозы воздействия до 2 мг/кг уже на 1-е сутки исследования характеризуется более низким содержанием MT в печени животных 60 недельного возраста по сравнению с 40 недельными, а кадмия – более высоким. Вероятно, такое резкое увеличение количества несвязанных ионов металла инициирует развитие патологических реакций в клетках органа и может стать причиной гибели организма в ранние сроки после токсической нагрузки. Это подтверждается данными о значительном снижении ЛД₅₀ (с 14 до 2 мг/кг) у крыс старше 50 недель [14]. Напротив, в почках увеличение концентрации кадмия на 1-е сутки не сопровождается существенным изменением уровня MT, который у интактных животных характеризуется относительно высоким значением. Только на 5-е сутки наблюдается достоверное повышение содержания MT, которое более выражено у крыс 40 недельного возраста. В это время продолжается перераспределение металла (чаще всего в виде Cd-MT) из печени в почки, где происходит его высвобождение из связанной формы в виде ионов, оказывающих повреждающее действие на клетки почечных канальцев. Поэтому в отдаленные сроки после воздействия гибель животных, в большей степени, определяется нефротоксичностью [3].

Таким образом, у подопытных 60 недельных крыс отмечается существенное снижение уровня синтеза MT в критических органах в ответ на поступление кадмия. Учитывая отсутствие достоверных различий в содержании MT у 40 и 60 недельных интактных животных, можно предположить, что воздействие металла в больших дозах выявляет эффект ослабления компенсаторно-защитных возможностей организма с увеличением возраста. Это еще раз подчеркивает особую роль MT в формировании механизмов адаптации к загрязнению окружающей среды кадмием и, возможно, другими тяжелыми металлами [11].

Заключение. Внутрибрюшинное введение кадмия в дозах 0,5 и 2 мг/кг обнаружило различия в синтезе MT и накоплении металла в печени и почках крыс разных возрастных групп. Концентрация кадмия в органах 40 недельных животных была ниже, чем у 60 недельных. При этом содержание MT, напротив, было выше. С увеличением дозы воздействия различия усугублялись. Вероятно, снижение интенсивности синтеза MT и скорости выведения кадмия с увеличением возраста животных является одной из основных причин токсических эффектов в ранние сроки после воздействия.

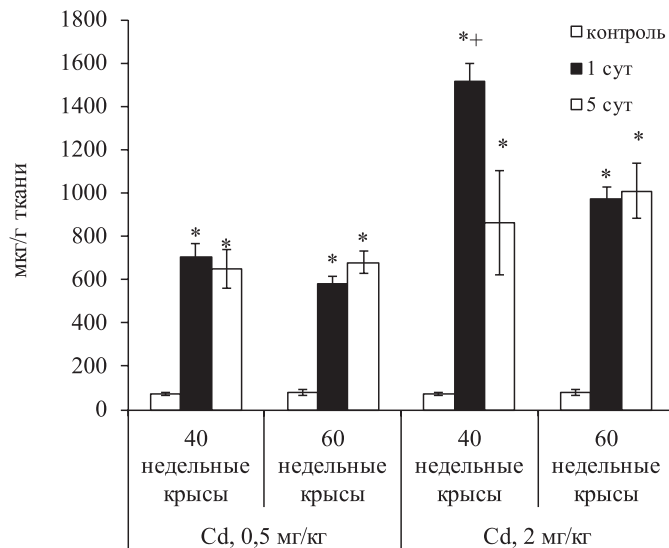


Рис. 1. Содержание MT в печени крыс при внутрибрюшинном введении кадмия в дозах 0,5 и 2 мг/кг

Примечание: * - различия значений достоверны относительно контроля; $p < 0,05$

+ - различия значений достоверны относительно 60 недельных животных; $p < 0,05$

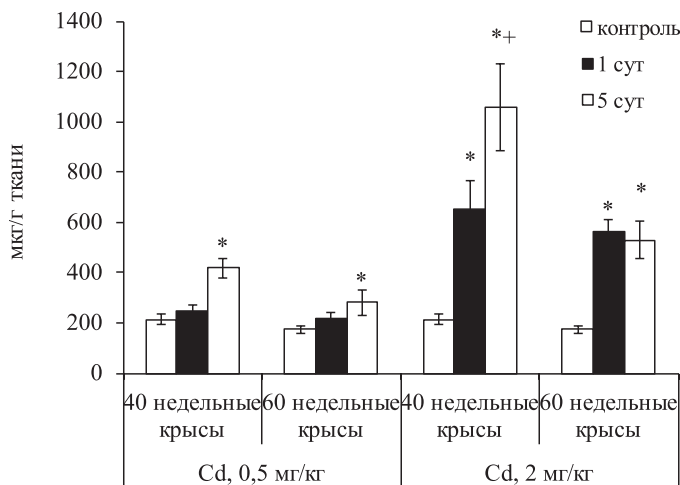


Рис. 2. Содержание MT в почках крыс при внутрибрюшинном введении кадмия в дозах 0,5 и 2 мг/кг

Примечание: * - различия значений достоверны относительно контроля; $p < 0,05$

+ - различия значений достоверны относительно 60 недельных животных; $p < 0,05$

Содержание кадмия в печени и почках крыс при внутрибрюшинном введении металла
в дозах 0,5 и 2 мг/кг, (мкг/г ткани)

Доза кадмия, мг/кг	Возраст крыс, недели	Сроки исследования, сутки					
		Контроль (n=6)		1 (n=4)		5 (n=4)	
Печень							
0,5	40	0,032	±0,007	10,722	±0,492 ⁺	5,939	±1,105 ⁺
	60	0,025	±0,005	14,891	±1,401 [*]	11,078	±0,100 [*]
2	40	0,032	±0,007	12,166	±0,912 ⁺	8,531	±2,422 ⁺
	60	0,025	±0,005	39,078	±2,635 [*]	20,480	±0,453 [*]
Почки							
0,5	40	0,071	±0,008	1,590	±0,023 ⁺	1,490	±0,013 ⁺
	60	0,146	±0,039	2,409	±0,034 [*]	2,580	±0,018 [*]
2	40	0,071	±0,008	5,875	±1,630 [*]	6,887	±0,002 ⁺
	60	0,146	±0,039	8,127	±0,664 [*]	9,687	±1,458 [*]

Примечание: * - различия значений достоверны относительно контроля; p<0,05

⁺ - различия значений достоверны относительно 60 недельных животных; p<0,05

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебное пособие для биол. спец. вузов 4-изд., перераб. и доп. М.: Высш. шк., 1990. - 352 с.
2. Обухов А.И., Плеханова И.О. Атомно-абсорбционный анализ в почвенно-биологических исследованиях. М.: Изд-во МГУ, 1991. - 184 с.
3. Dudley R.E., Gammal L.M., Klaassen C.D. Cadmium-induced hepatic and renal injury in chronically exposed rats: likely role of hepatic cadmium metallothionein in nephrotoxicity // *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1985. -V.77. -P. 414-426.
4. Dudley R.E., Svoboda D.J., Klaassen C.O. Acute exposure to cadmium causes severe liver injury in rats // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1982.-V. 65.-P. 302-313.
5. Eaton D.L., Toal B.F. Evaluation of the Cd/Hemoglobin affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissues // *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1982.-V.66.-P. 134-142.
6. Goering P.L., Waalkes M. P., and Klaassen, C. D. Cadmium toxicity // In *Handbook of Experimental Pharmacology; Toxicology of Metals, Biochemical Effects* (R. A. Goyer and M. G. Cherian, Eds.), Springer-Verlag, New York, 1994. -P. 189-214.
7. Goyer R.A., Cherian M.G. Toxicology of metals: biochemical aspects // In: *Handbook of Experimental Pharmacology*. New York: Springer-Verlag., 1995.-V.115.-P. 189-213.
8. Habeebu S.S., Liu J., Liu Y., Klassen C.D. Metallothionein-null mice are more sensitive than wild-type mice to liver injury induced by repeated exposure to cadmium // *Toxicological Sciences*, 2000.-V.55.-P.223-232
9. Harsad E.B., Klaassen C.D. Analysis of strain difference in sensitivity to cadmium-induced hepatotoxicity in Fisher 344 and Sprague-Dawley Rats // *Toxicological Sciences*, 2002.-V.67.-P.329-340
10. Hussain T, Shukla G. S., Chandra S.V. Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: In vivo and in vitro studies // *Pharmacology and Toxicology*, 1987.-V.60.-P. 355-358.
11. Klaassen C.D., Liu J. Induction of Metallothionein as an Adaptive Mechanism Affecting the magnitude and progression of Toxicological injury // *Environmental Health Perspectives*, 1998.-V.106.-№1.-P.297-300
12. Klaassen C.D., Liu J., Choudhuri S. Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity // *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1999. -V.39. -P. 267-294.
13. Klaassen C.D., Liu J., Diwan B.A. Metallothionein protection of cadmium toxicity // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009.-V. 238.-№ 3.-P. 215-220.
14. Kostial K., Kello D., Blanus M., Maljkovic T., and Rabar I. Influence of Some Factors on Cadmium Pharmacokinetics and Toxicity // *Environmental Health Perspectives*, 1979. -V. 27. -P. 89-95.
15. Kuester R. K., Waalkes M. P., Goering P. L., Fisher B. L., McCuskey R. S., Sipes I. G. Differential Hepatotoxicity Induced by Cadmium in Fischer 344 and Sprague-Dawley Rats // *Toxicological Sciences*, 2002. -V.65.-P.151-159
16. Nordberg G.F. Cadmium metabolism and toxicity // *Environ. Physiol. Biochem.* 1972.-V. 2. -P. 7-36.
17. Solaiman D., Jonah M., Miyazaki W., Ho G., Bhattacharyya M. Increased metallothionein in mouse liver, kidneys, and duodenum during lactation // *Toxicological Sciences*, 2001. -V.60.-P.184-192.
18. Viarengo A., Nicotera P. Possible role of Ca²⁺ in heavy metals cytotoxicity // *Comp. Biochem. Physiol.*, 1991.-V.100C(1/2).-P. 81-84.

Kobyalko V.O., Mirzoyev E.B., Gubina O.A., Frolova N.A., Ratnikova L.I., Anisimov V.S.

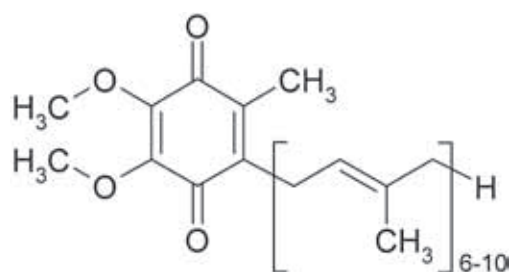
Content of metallothioneins in liver and kidneys of rats of different age at intra-abdominal administration of cadmium nitrate

All-Russian Research Institute of Agricultural Radiology and Agro-Ecology, Obninsk

Significant differences were found out in the content of metallothioneins and cadmium in liver and kidneys of rats of different age at the intra-abdominal administration of cadmium nitrate solution in doses of 0.5 and 2 mg/kg in terms of metal ions. In 60 week aged animals a lower level of metallothioneins was revealed in animal organs than in 40 week aged but the content of cadmium was higher. With increased exposure doses, this discrepancy exacerbated. It is supposed that high doses metal exposure evokes dampening of the compensatory and protective potential of the organism with aging.

Материал поступил в редакцию 14.07.2010 г.

Токсикологическая характеристика коэнзима Q10 и лекарственного препарата «Кудесан» на его основе



Субстанция «Кудесана» и его лекарственные формы являются малотоксичными. Не обладают специфическими и отдаленными эффектами.

Ключевые слова: токсичность, лекарственные формы

Введение. Коэнзим Q10 (убидекаринон) впервые выделен в 1957 году из митохондрий сердца быка [1]. В последующих многочисленных публикациях было показано, что коэнзим Q10 находится практически во всех клетках организма, причем 40-50 % его сосредоточено в митохондриях.

По химическому строению коэнзим Q представляет собой бензохиноновое кольцо с полиизопреновым гидрофобным хвостом [6]. Число изопреновых звеньев видоспецифично: у человека преобладает форма Q10, у грызунов Q9.

Убихинон – 2,3-Диметокси-5-метил-1,4-бензохинон-полиизопрен (n=10).

Убихинон относится к витаминоподобным веществам, т.к. он не синтезируется в количествах, необходимых для полного обеспечения потребности организма в этом биологически активном веществе и часть его всегда поступает с пищей [2].

Наиболее изученной функцией коэнзима Q10 в живых организмах является его участие в работе дыхательной электрон-транспортной цепи. Коэнзим Q10 выполняет роль кофермента комплекса, т.о. участвует в переносе электронов [4].

Другой важнейшей функцией коэнзима Q10 в организме является антиоксидантная защита. Убихинон – единственный липидорастворимый антиоксидант, способный синтезироваться в организме человека и животных, а также постоянно регенерироваться из окисленной формы с помощью ферментных систем [3].

Важность вышеуказанных свойств коэнзима Q10 для процессов жизнедеятельности клеток различных органов, особенно высокоэнергетических (сердце, печень, почки и др.), привлекает внимание возможности клинического применения коэнзима Q10 в различных областях медицины. Убихинон активно изучается в кардиологии, неврологии, стоматологии и широко применяется в косметологии.

Наиболее успешным является использование коэнзима Q10 при лечении хронической сердечной недостаточности. Метаанализ 13 рандомизированных двойных слепых исследований показал, что коэнзим Q10 достоверно улучшает метаболизм миокарда при хронической сердечной недостаточности, повышает толерантность больных к физическим нагрузкам, снижает частоту и продолжительность госпитализаций из-за декомпенсаций [5,7].

С каждым годом существенно возрастает количество публикаций с результатами экспериментального изучения и успешного применения коэнзима Q10 при различной патологии, что делает его применение в клинической практике все более привлекательным.

ЗАО «Аквион» на основе коэнзима Q10 разработал лекарственный препарат «Кудесан» в солюбилизированной форме (капли) и в виде таблеток для приема внутрь, в состав которых кроме активных компонентов – коэнзима Q10 – входят вспомогательные вещества, разрешенные для медицинского применения.

Целью исследования являлось изучение токсичности субстанции коэнзима Q10 (убихинон) и его указанных лекарственных форм.

Материалы и методы исследования. Программа исследований предусматривала изучение токсичности и переносимости субстанции коэнзима Q10 и готовых лекарственных форм препарата «Кудесан» при однократном введении в желудок и при длительном назначении лабораторным животным в условиях хронических экспериментов. Предусматривалась также оценка потенциальных мутагенных, аллергизирующих и иммуноклеточных свойств, эмбриотоксичности, тератогенности субстанции препарата и ее влияния на репродуктивную функцию.

Исследования выполнены в соответствии с официальными методическими рекомендациями, представленными в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (М, 2005).

Изучение токсичности субстанции коэнзима Q10 при однократном введении в желудок проведено на мышах линии BALB/c (самцы и самки, масса тела 18-20 г) и на крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-200 г). Животных получали из ГНЦ Биомедицинских технологий РАМН с ветеринарным сертификатом качества о состоянии здоровья. Животные имели свободный доступ к водопроводной питьевой воде и стандартному брикетированному корму ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб»). За 12 часов до проведения эксперимента животных лишили корма. Субстанцию коэнзима Q10 растворяли в рафинированном подсолнечном масле при слабом нагревании и с помощью металлического зонда вводили в желудок мышам в диапазоне доз 100 – 16 000 мг/кг, крысам в диапазоне 100 – 12 000 мг/кг.

При изучении токсичности жидкой лекарственной формы препарата «Кудесан» капли для приема внутрь (30 мг/мл) непосредственно вводили в желудок животным, таблетки для приема внутрь (30 мг) предварительно измельчали в фарфоровой ступке и вводили в виде взвеси в 1% крахмальном геле. Длительность наблюдения за подопытными животными после введения препарата составляла 14 дней.

Результаты и обсуждение. Установлено, что субстанция «Кудесана» и его лекарственные формы являются малотоксичными. Однократное внутрижелудочное введение субстанции препарата в максимальных испытанных дозах 16 000 мг/кг (мышы) и 12 000 мг/кг (крысы) приводило к некоторому снижению их двигательной активности, обусловленной введением больших объемов растительного масла. Признаков интоксикации и гибели животных в течение 2-х недельного наблюдения не отмечалось. Введение больших доз убихинона ограничивалось его растворимостью и максимально допустимыми объемами жидкости при внутрижелудочном введении животным. Введение в желудок жидкой лекарственной формы препарата «Кудесан» в максимально допустимых объемах (2-х кратное с интервалом 30 минут) в суммарной дозе 2 мл / мыш (100 мг / кг, 3000 мг/кг по убихинону) и 15 мл на крысу (75 мг/кг, 2250 мг/кг по убихинону) не вызывало при-

Коротаяева А.Л.,
Армазасев Е.В.,
Малиновская К.И.,
Терехова О.Л.,
Левницкая Е.Л.,
Полужкова В.П.,
Габова Л.В.,
Афанасьева Е.Ю.,
Голубых В.Л., Амбарцумян А.Ш.

Лаборатория лекарственной токсикологии НИИ экспериментальной кардиологии
ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс
Минздравсоцразвития»

знаков интоксикации и гибели животных. Назначение таблетированных форм указанным выше способом в суммарных дозах 100 мг/мыш (5000 мг/кг) и 750 мг/крысу (3750 мг/кг) также не вызывало признаков интоксикации и гибели животных. При этом не выявлено существенных видовых и половых различий в чувствительности мышей и крыс к токсическому действию препарата.

Изучение токсичности субстанции препарата «Кудесан» при длительном введении в желудок проведено в условиях 6-месячного хронического эксперимента на крысах Wistar (самцы и самки, исходная масса тела 180-200 г), а токсичность лекарственных форм при 1-месячном назначении собакам. Испытанные в этих опытах дозы в пересчете на убихинон составляли 30, 60 мг/кг (крысы) и 30 мг/кг (собаки), превышали при этом высшую суточную терапевтическую дозу для человека (3 мг/кг) в 10 и 20 раз. В различные сроки проведения экспериментов определяли гематологические показатели на автоматическом счетчике «Пикоскель» (Венгрия), биохимические показатели и активность ферментов сыворотки крови подопытных животных на анализаторе «ФП-901 Лабсистемс» (Финляндия), используя стандартные наборы реактивов фирм «Диакон-Синтеко» (Россия), «ДиаСис» (Германия), «Cotway» (Польша). Как показали проведенные исследования, субстанция препарата «Кудесан» в испытанных дозах при ежедневном в течение 6 месяцев введении в желудок крысам не влияла на общее состояние и поведение животных. Масса тела крыс в подопытных группах, подвергавшихся воздействию убихинона в течение всего эксперимента, не отличалась от показателей контрольных групп, получавших растительное масло, использованное для растворения препарата.

Исследования, проведенные до введения, а также через 1, 3 и 6 месяцев назначения субстанции препарата в испытанных дозах 30 и 60 мг/кг не выявили ее влияния на гематологические (количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, уровень гемоглобина) и биохимические показатели сыворотки крови (уровень общего белка, глюкозы, холестерина, триглицеридов, мочевины и креатинина, активность аспартат- и аланинаминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы) по сравнению с контролем.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ежедневное внутрижелудочное введение субстанции препарата «Кудесан» крысам Wistar в течение 6 месяцев в дозах 10- и 20-тикратно превышающих суточную дозу для человека, не влияет на общее состояние и поведение животных, а также на гематологические показатели. Согласно результатам биохимических тестов препарат не влияет на функциональное состояние важнейших органов и систем организма подопытных животных.

Результаты сравнительных макро и микроскопических исследований, проведенных после окончания хронического эксперимента на крысах, не выявили токсического действия субстанции препарата в испытанных дозах 30 и 60 мг/кг.

Исследование токсичности готовых лекарственных форм препарата «Кудесан» (капли и таблетки для приема внутрь) при ежедневном в течение 1 месяца назначения собакам (самцы, первоначальная масса тела 10-12,5 кг) с небольшим количеством творога в дозировке 30 мг/кг (по убихинону) показало их хорошую переносимость и отсутствие негативного влияния на общее состояние животных, а также на указанные выше гематологические и биохимические показатели. Не установлено также повреждающего действия препарата на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы собак (ЭКГ-исследования во II стандартном отведении). Не выявлено проявлений токсичности изучаемых лекарственных форм препарата «Кудесан» и при патоморфологическом исследовании внутренних органов животных после окончания эксперимента.

При исследовании мутагенности субстанции препарата была изучена его способность вызывать генные мутации у индикаторных штаммов *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1537 в системе метаболической активации *in vitro* и без нее в диапазоне концентраций 0,1 – 1000 мкг на чашку Петри. Проведена оценка влияния препарата на хромосомные aberrации в клетках костного мозга мышей-гибридов F₁ (СВА*С₃В₁) при однократном внутрижелудочном введении в дозе 30 мг/кг, а также проведен учет доминирующих летальных мутаций при воздействии препарата в дозе 300 мкг/кг. Испытанные при этом дозы убихинона, соответственно в 10 и 100 раз превышали высшую терапевтическую дозу для человека.

На автоматическом микробиологическом анализаторе «Биоскрин» (Labsystems, Финляндия) было изучено влияние убихинона на систему репарации ДНК в SOS-хромостете на штамме *E.coli* PQ37 в диапазоне испытанных концентраций 0,01 – 5 мг/мл.

В результате проведенных исследований установлено, что убихинон ни по одному из испытанных тестов не проявляет мутагенных свойств и не обладает ДНК-повреждающим действием и, следовательно, не является потенциальным канцерогеном.

В испытанной дозе 30 мг/кг (10-кратная высшая терапевтическая доза, рекомендованная для человека) убихинон при введении в желудок с 1 по 20 день гестации не влиял на прибавку массы тела крыс Wistar, продолжительность беременности, количество живых плодов, мест имплантации и желтых тел, массу тела эмбрионов и их кранио-каудальный размер, а также показатели пред- и постимплантационной гибели плодов.

Субстанция препарата в испытанной дозе 30 мг/кг не проявляла тератогенности. При анализе тотальных препаратов, окрашенных аллизарином для изучения развития костной системы у плодов, не выявлено пороков развития скелета и задержки ossификации точек окостенения. При назначении с 1 по 20 день беременности не установлено влияния субстанции препарата на количество родившихся крысят и показатели постнатальной смертности крысят. Развитие потомства в группе беременных крыс, подвергшихся воздействию субстанции препарата «Кудесан» в испытанной дозе 30 мг/кг, по принятым критериям проходило без отклонений.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии эмбриотоксического и тератогенного действия субстанции препарата в дозе 30 мг/кг.

При ежедневном введении в желудок убихинона в дозе 30 мг/кг крысам-самцам Wistar в течение 10 недель (2-3 цикла сперматогенеза) и крысам-самкам в течение 2 недель (2-3 эстральных цикла) не установлено влияния на репродуктивную функцию половозрелых животных.

При изучении аллергизирующих свойств коэнзима Q10 в эксперименте на морских свинках при их 5-кратной с интервалом в 1 день сенсибилизации внутрижелудочным введением препарата в дозах 3 и 30 мг/кг и пероральным введением разрешающей дозы в 30 мг/кг на 14 и 21 дни после сенсибилизации не выявлено анафилактического действия.

При оценке аллергизирующего действия убихинона в реакции гиперчувствительности замедленного типа на морских свинках при его однократном введении в подушечки конечностей в дозах 0,3 и 0,6 мг/кг с полным адьювантом Фрейнда 1:1 реакция была отрицательной.

При сублантанном введении мышам-гибридам F1 (CBAxС57В16) в дозе 25 мг/кг убихинон не проявлял аллергизирующих свойств и в реакции подколенного лимфоузла.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в испытанных дозах и схемах сенсибилизации убихинон при введении лабораторным животным не обладает аллергизирующими свойствами.

В испытанных дозах 30 и 60 мг/кг субстанции препарата «Кудесан» не влияет на число антителобразующих (реакция Эрне) и ядродержащих клеток в селезенке мышей –гибридов F1 (CBAxС57В16), а также на реакцию гиперчувствительности замедленного типа у мышей –гибридов F1 (CBAxС57В16). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии влияния убихинона на гуморальный и клеточный иммунитет и, следовательно, об отсутствии иммуноотоксичности.

Заключение: «Кудесан» является малотоксичным препаратом. Субстанция препарата – коэнзим Q10 (убихинон) и лекарственные формы – капли и таблетки для приема внутрь при однократном внутрижелудочном введении лабораторным животным в максимально возможных (ограничениями по объему вводимой жидкости и растворимости веществ) дозах не вызывают признаков интоксикации и гибели животных. Испытанные при этом максимальные дозы убихинона в опытах на мышах BALB/c 16 000 мг/кг и на крысах Wistar 12 000 мг/кг в 5000 и 4000 раз превышают высшую терапевтическую дозу для человека (250 мг/сутки или 3 мг/кг).

Максимальные испытанные дозы солибутирированной лекарственной формы при внутрижелудочном введении мышам и крысам, соответственно составили 100 мл/кг (3000 мг/кг по убихинону) и 75 мл/кг (2250 мг/кг по убихинону). Максимальные испытанные дозы при оценке токсичности таблеток препарата «Кудесан» при однократном введении в желудок мышам составили 5 000 мг/кг, крысам 3750 мг/кг.

В условиях хронических экспериментов при 6-месячном внутрижелудочном введении крысам Wistar субстанции препарата в дозах 30 и 60 мг/кг и при 1-месячном назначении готовых лекарственных форм препарата «Кудесан» собакам в дозе 30 мг/кг (в пересчете на убихинон) не выявлено токсического действия.

По результатам проведенных исследований: тест Эймса, учет хромосомных aberrаций в клетках костного мозга и доминантных деталей в зародышевых клетках мышей-гибридов F1 (CBAxС57В16), оценка влияния на систему репарации ДНК в SOS-хромостесте коэнзим Q10 не обладает мутагенными свойствами и не является потенциальным канцерогеном.

При введении в желудок беременным крысам Wistar в дозе 30 мг/кг на протяжении всего периода гестации коэнзим Q10 не обладает эмбриотоксичностью и тератогенностью. При назначении субстанции препарата в дозе 30 мг/кг самцам половозрелых крыс Wistar в течение 2-3 циклов сперматогенеза и самкам в течение 3 эстральных циклов не установлено влияния на репродуктивную функцию животных.

В испытанных дозах и схем введения субстанции препарата не проявляет аллергизирующего и иммуноотоксического действия.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Crane FL, Hatefy Y, Lester RL, Widmer C. Isolation of a quinone from beef heart mitochondria. // *Biochimica et Biophysica Acta* 25: 220-221, 1957.
2. Kalén A, Appelkvist EL, Dallner G. Age-related changes in the lipid compositions of rat and human tissues. // *Lipids*. Jul;24(7):579-84, 1989.
3. Mellors A., Tappei A.L., The inhibition of mitochondrial peroxidation by ubiquinone and ubiquinol. *J.Biol.Chem*, 241: 4353, 1966
4. Mitchell P. Possible molecular mechanisms of the protonmotive function of cytochrome systems. *J.Theoret.Biol*, 62: 327-367 1976.
5. Mortensen S.A. Perspectives on therapy of cardiovascular disease with coenzyme Q10 (ubiquinone) // *Clin.Investig*, 71: 116-123, 1993
6. Morton RA, Wilson GM, Lowe JS, Leat WMF. Ubiquinone. // *Chemical industry*, 1649. 1957
7. Rosenfeldt F.L., Haas S.J, Krum H., Hadj A, Ng K., Leong JY., Watts G.F. Coenzyme Q10 in the treatment of hypertension: a meta-analysis of the clinical trials // *J Hum Hypertens* 21 (4), 297-306, 2007.

Korotayeva A.L., Arzamastsev Ye.V., Malinovskaya K.I, Terekhova O.L.,
Levitskaya Ye.L., Poluektova V.P., Gabova L.V., Afanasyeva Ye.Yu., Golubykh V.L.,
Ambartsumyan A.Sh.

Toxicological characteristics of Coenzyme Q10 and Coenzyme Q10-based medicinal preparation Kudesan

Laboratory of Medicinal Toxicology, Institute of Experimental Cardiology, Russian Cardiology Research and Production Complex, Moscow

The substance Kudesan and its medicinal products are low toxic, do not produce any specific and delayed effects.

Материал поступил в редакцию 21.06.2010 г.

Рыбы с воздушным дыханием в системах экстренного оповещения о токсичности воды

В статье рассматривается возможность использования рыб с воздушным дыханием в системах, осуществляющих непрерывный контроль качества воды в местах водопотребления с целью экстренного оповещения об опасности в случае выявления высокого уровня токсического загрязнения. На основании анализа литературных данных и собственных исследований интенсивности воздушного дыхания *Macropodus opercularis* L. в норме и при фенольным отравлении, делается вывод, что рыбы с воздушным дыханием перспективны для использования в качестве биодатчика в таких системах.

Ключевые слова: мониторинг токсичности воды в режиме on-line, биологические системы раннего оповещения, воздуходышащие рыбы.

Введение. Современное развитие цивилизации сопровождается возрастанием угрозы возникновения техногенных катастроф, как от технологических причин, так и от расширения и усиления терроризма в мировом масштабе. Именно поэтому в последние годы большое внимание стало уделяться проблеме создания систем раннего оповещения о резком повышении токсичности (Toxicity Early Warning System (TEWS) воды в местах водозабора для жизненно необходимых целей [1, 2]. Задача сложная и ответственная, особенно если учесть, что решение о токсической опасности должно приниматься в максимально короткие сроки с исключением возможных ошибок. Большое разнообразие токсичных соединений, которые могут быть опасными при попадании в воду, не позволяет создать TEWS, используя только физико-химические приборы-анализаторы. Поэтому распространение получили комплексные системы, включающие помимо физико-химических анализаторов биологические системы раннего обнаружения (BEWS), использующие в качестве датчика токсичности живые водные организмы. При выборе биодатчика (тест-организма) предпочтение часто отдается рыбам по следующим причинам: повсеместное распространение, хорошая изученность, простота культивирования многих видов, высокая организация ЦНС и, соответственно, большое разнообразие поведенческих реакций на состояние водной среды в сочетании с разработанными методами их регистрации. При появлении в воде токсичных соединений рыбы меняют характер дыхательной активности [2-5]. Как правило, это увеличение частоты и амплитуды движений жаберных крышек, аритмия дыхания, резкое усиление интенсивности «кашля» - резких очищающих движений жаберных крышек. Существуют технические решения BEWS, реализованные на практике [6], в которых регистрация параметров дыхания осуществляется путем оценки изменений электромагнитного поля, создаваемого рыбой при осуществлении водного дыхания. При этом используются неинвазивные методы, требующие существенного ограничения подвижности рыбы, что возможно, если рыбу поместить в небольшую водонепроницаемую камеру, находящуюся в потоке контролируемой воды. Устройства подобного рода используются в настоящее время в США в установках для непрерывного контроля качества воды водоемов в режиме on-line [2, 4-6]. Имеются и другие аналогичные разработки, отличающиеся только методом регистрации вышеописанных параметров физиолого-поведенческих реакций рыб [2]. Существенным недостатком таких систем, является то, что наблюдения ведутся за одиночной рыбой, находящейся в условиях существенного ограничения движений, что само по себе вызывает у рыб стресс.

Помимо рыб с чисто водным дыханием, о которых речь шла выше, существуют и рыбы с бимодальным дыханием (возвохдышащие рыбы - air-breathing fish), имеющие специальные органы для осуществления воздушного дыхания [7, 8]. Одни из них - факультативные - пользуются воздушным дыханием только тогда, когда в этом есть необходимость, в то время как другие - облигатные - дышат атмосферным воздухом постоянно и погибают, если их лишить возможности подниматься к поверхности воды. Опубликовано довольно много работ, в которых отмечается, что при ухудшении качества водной среды рыбы с воздушным дыханием переходят на более интенсивное использование кислорода из атмосферы, снижая при этом водное дыхание путем понижения частоты и амплитуды движений жаберных крышек. В природных условиях это часто наблюдается при гипоксии и увеличении в воде аммония и сероводорода [9-11]. Но и присутствие в воде поллютантов также вызывает подобную реакцию: высокое содержание солей тяжелых металлов [12, 13]; водорастворимых фракций нефти и поли и моноароматических соединений [14]; пестицидов [15-21] и других ядов [22,23]. Такое поведение имеет много общего с хорошо известной реакцией активного избегания рыбами загрязненных поллютантами водных территорий [4, 20]. Показательны в этом плане наблюдения Хьюз и Сингх [9], опубликованные сорок лет назад. По их данным при очень высоком содержании в воде углекислого газа *Anabas testudineus* полностью пре-

кращает водное дыхание (плотно закрывает жаберные крышки и рот) и переходит исключительно на воздушное дыхание. *Anabas testudineus* способен покинуть водоем и переползти в другой с лучшими для жизни условиями, если на это даже потребуется несколько часов [7, 8].

Приведенные литературные данные дают основание полагать, что описанная выше адаптационная способность рыб с бимодальным дыханием может быть использована в системах BEWS. Экспериментальной оценке этого предположения и посвящена настоящая работа.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на обычных для мелких пресноводных водоемов Юго-Восточной Азии макроподах (*Macropodus opercularis* L.), облигатных воздуходышащих рыбах. Использовали молодых особей размером 35-40 мм, выращенных в аквариумных условиях в лабораторном помещении при температуре 22°C ±1. За сутки до начала опыта рыб прекращали кормить. Отобранных для эксперимента особей случайным образом разделяли на две равные по объему группы (опытную и контрольную) и помещали в специальное устройство, разработанное нами [25]. До начала опыта рыб сутки выдерживали в устройстве для адаптации. Схема устройства приведена на рис. 1. Рыбы, находящиеся в цилиндрической стеклянной емкости диаметром 300 мм и высотой 400 мм (объем воды 10 л, количество рыб - 6 шт.), имели возможность дышать атмосферным воздухом через отверстия диаметром 14 мм в пластине (толщина 3 мм) из винипласта, установленной под поверхностью воды на глубине 3-4 мм. Число отверстий 17, расположены они на одинаковом расстоянии от центра пластины (см. рис. 1). Колебания воды, вызванные захватом рыбой атмосферного воздуха, регистрировались оптоэлектронной системой. Принцип ее работы. Световой луч от лазерного источника света, направленный под острым углом к водной поверхности в ее центральную часть, отражается от поверхности воды и попадает на фотоприемник, соединенный с блоком электронной обработки. При возникновении колебаний поверхности воды изменяется выходящий сигнал фотоприемника, что и оценивается электронным блоком. Пластина, установленная под поверхностью воды, выполняет роль фильтра: снижает вероятность возникновения колебаний поверхности воды при резких движениях рыбы, не дает рыбам выпрыгивать из воды, в то же время, позволяет осуществлять воздушное дыхание через отверстия. Использовались одновременно два идентичных устройства (контроль и опыт), которые размещались в светонепроницаемой камере, установленной на массивную подставку с резиновыми амортизаторами, что минимизировало возможность возникновения колебаний водной поверхности в емкостях от случайных внешних источников и изолировало рыб от визуальных воздействий. Устройства отделялись друг от друга непрозрачной перегородкой. Камера внутри освещалась люминесцентной лампой, создающей освещенность на уровне емкостей с рыбами примерно в 200 лк. Аналогичное освещение использовалось в помещении лаборатории в вечернее время.

Схема проведения эксперимента. В непрерывном режиме с помощью оптоэлектронного блока параллельно в двух устройствах регистрировались моменты захвата рыбой порции воздуха с поверхности воды и подсчитывалось их число за десять минут. По результатам измерения строились графики изменения интенсивности воздушного дыхания рыб во времени до и после внесения в воду раствора фенола (производитель Rieder-deHaen, extra рш) в количестве, необходимом для создания конечной концентрации в 1 и 5 мг/л (концентрации ниже остротоксичной для нереофильных пресноводных рыб [26, 27]). Раствор фенола в опытное устройство вводился небольшими порциями на дно емкости в течение 5 минут через тонкую стеклянную трубочку. Параллельно в контрольное устройство вводили аналогичным образом такое же количество чистой дехлорированной водопроводной воды, которую также использовали и для приготовления растворов фенола.

Результаты и их обсуждение. Посаженные в емкости устройства рыбы быстро адаптировались к новым не обычным для них условиям воздушного дыхания. За сутки

нахождения в установке режим воздушного дыхания стабилизировался и рыбы, исходя из визуального наблюдения их поведения, не испытывали стресса. Эксперименты начинались в 10 часов утра и продолжались 6 часов. Всего было проведено 4 опыта: по два с каждой концентрацией фенола. Наблюдаемая картина изменений воздушного дыхательной активности при введении раствора фенола в емкости с рыбами мало чем отличалась в двух опытах с одной концентрацией фенола, в то же время отличия между опытами с разными концентрациями были существенны. На рис. 2 в графическом виде показана динамика изменения воздушного дыхания рыб во времени в норме и при токсическом воздействии (контроль и опыт). В таблице 1 приведены числовые данные, характеризующие графики.

Анализ данных таблицы 1 показывает, что за время проведения экспериментов в контрольных устройствах частота захватов рыбами воздуха с поверхности воды мало менялась, в то время как в опытных устройствах наблюдалось статистически значимое ее увеличение. При этом если при внесении фенола в концентрации 1 мг/л прирост составил примерно 50%, то в опыте с концентрацией 5 мг/л частота всплывтий в первый час после внесения токсиканта увеличилась более чем в 2 раза. Изменения в первом случае носили временный характер (примерно один час, после чего активность пришла к норме), тогда как при внесении фенола в концентрации 5 мг/л высокая интенсивность воздушного дыхания сохранялась весь период регистрации после внесения в воду токсиканта (4 часа).

Заключение. Результаты выполненной работы дают основание рассматривать как вполне реальную возможность создания систем BEWS с использованием в качестве биодатчика рыб с бимодальным дыханием. С инженерной точки зрения регистрация воздушного дыхания по сопровождающим этот процесс колебаниям водной поверхности не представляет особой трудности. Один из таких вариантов был реализован нами в данной работе. Можно ожидать высокой чувствительности систем BEWS, использующих рыб с бимодальным дыханием. В наших экспериментах ответ наблюдался при появлении в воде токсиканта в концентрациях существенно ниже остротоксичной.

В системах раннего обнаружения токсической опасности живые организмы выполняют роль датчика, которые требуют периодической замены. Поэтому важно, чтобы такие тест-организмы были доступны и просты для содержания. Этим требованиям удовлетворяют многие рыбы с бимодальным дыханием, давно и успешно культивируемые аквариумистами.

В заключение автор выражает благодарность Ю.Н.Сопову за участие в создании устройства для регистрации воздушного дыхания рыб и оказание помощи автору в получении экспериментального материала.

Лукьянов А.С.

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

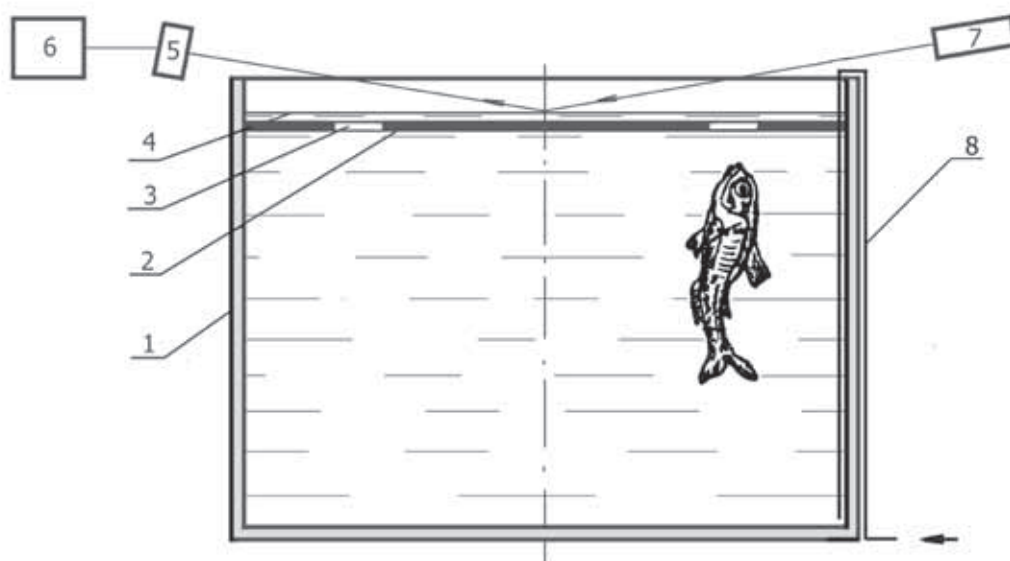


Рис.1. Схема устройства для регистрации интенсивности воздушного дыхания рыб с бимодальным дыханием. 1 - стеклянная цилиндрическая емкость; 2 - пластина, ограничивающая доступ рыб к поверхности воды; 3 - отверстия в пластине, дающие возможность рыбам захватывать воздух с поверхности воды; 4 - поверхность воды; 5 - фотоприемник, на который фокусируется отраженный от поверхности воды луч света лазерного излучателя (7); 6 - электронный блок обработки электрического сигнала от фотоприемника; 8 - стеклянная трубочка, по которой в емкости с рыбами вводились растворы фенола и чистая вода.

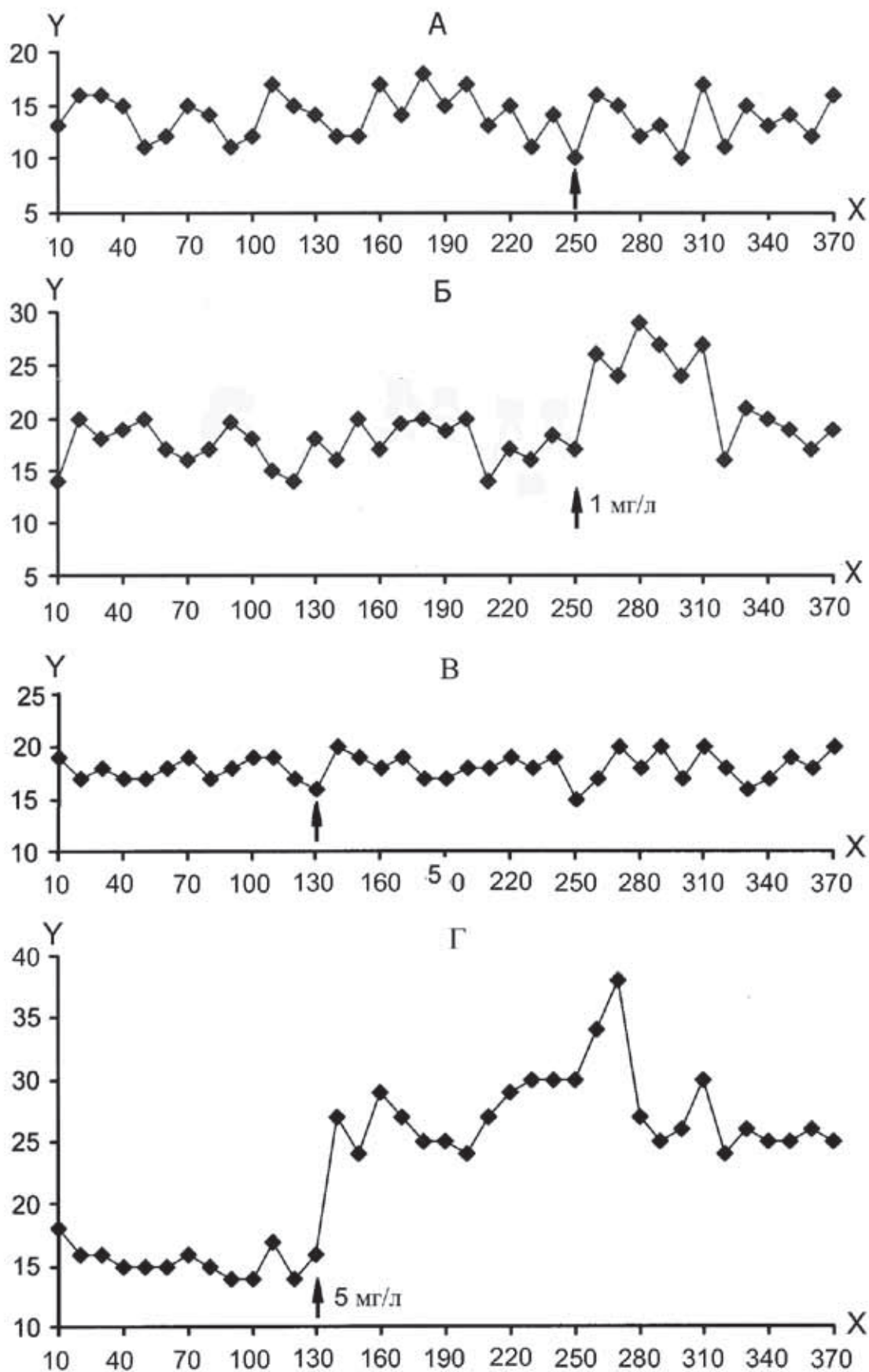


Рис.2. Графики изменения во времени интенсивности воздушного дыхания группы рыб в опытном и контрольном устройствах.

А и Б - опыт 1; В и Г - опыт 2; А и В – контроль; Б и Г – опытные устройства: в воду вносились растворы фенола 1 мг/л (Б) и 5 мг/л (Г). Стрелки показывают время, когда вводились токсические растворы в опытные устройства и дехлорированная вода в контрольные.

Данные статистической обработки результатов, представленных на рис.2

Таблица 1

Сравниваемые данные		M_1	σ	n	M_2	σ	n
Опыт 1.	Контроль	13,96	2,21	25	13,67	2,19	12
	Токсическое воздействие (фенол (1 мг/л))	<u>17,52</u>	1,96	25	<u>22,42</u>	4,32	12
Опыт 2.	Контроль	17,77	1,01	13	18,21	1,35	24
	Токсическое воздействие (фенол (5 мг/л))	<u>15,46</u>	1,20	13	<u>27,42</u>	3,39	24

Примечание: M – среднее значение числа всплывий за десять минут до внесения (M_1) и после внесения токсиканта (M_2); σ – среднеквадратическое отклонение; n – число точек; подчеркнуты статистически значимые различия по U-критерию Манна-Уитни ($p < 0,01$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hasan J., States S., Deininger R. Safeguarding the security of public water supplies using early warning systems. // J. Contemporary water research and education, 2004. №129. - P. 27-33.
2. Gerhardt A., Ingram M.K., Kang I.J., Ulitzur S. In situ on-line toxicity biomonitoring in water: recent developments. // Environ. Toxicol. Chem., 2006. V.25, №9. - P.2263-2271.
3. Beitinger T.L. Behavioral reactions for the assessment of stress in fishes. // Great Lakes Research, 1990. №16. - P.495-528.
4. Kane A.S., Salierno J.D., Brewer S.K. Fish models in behavioral toxicology: automated techniques, updates and perspectives. In Methods in aquatic toxicology. (Ed. Ostrander G.K.) Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 2005. - P.559-590.
5. Schalie W.H. van der Shedd T.R., Widder M.W., Brennan L.M. Response characteristics of an aquatic biomonitor used for rapid toxicity detection. // J. appl. toxicity, 2004. V.24. №5. - P. 387-394.
6. Shedd T.R., Widder M.W., Brown M.W., Swanson M.S. Apparatus and method of portable automated biomonitoring of water quality. United States Patent 6988394, 2006.
7. Johansen K. Air breathing in fishes. In Fish physiology (Ed. Hoar W.S., Randall D.J.), Academic Press, Inc., N.Y., 1970. V.4. - P.361-411.
8. Graham J.B. (ed.). Air-Breathing Fishes: Evolution, Diversity, and Adaptation (Hardcover). Published by Academic Press, Harbound, 1997. - 299 p.
9. Hughes G.M., Singh B.N. Respiration in an air-breathing fish, the climbing perch, *Anabas testudineus*. II. Respiratory patterns and the control of breathing. // J. Exp. Biol., 1970. T.53. - P. 281-298.
10. Alfonso E.G., Rantin F.T. Respiratory responses of the air-breathing fish *Hoplosternum littorale* to hypoxia and hydrogen sulfide. // Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol., 2005. V.141. №3. - P. 275-280.
11. Plath M., Tobler M., Riesch R., García de León F.J., Giere O., Schlupp I. Survival in an extreme habitat: the roles of behaviour and energy limitation. // Naturwissenschaften, 2007. V.94, №12. - P.991-996.
12. Das K.K., Dastidar S.G., Chakrabarty S., Banerjee S. K. Toxicity of mercury: A comparative study in air-breathing and non air-breathing fish. // Hydrobiol., 1980. V.68, №3. - P.225-229.
13. Das K.K., Banerjee S.K. Cadmium toxicity in fishes. // Hydrobiol., 1980. V.75, №2, - P.117-121.
14. Brauner C.J., Ballantyne C.L., Vijayan M.M., Val A.L. Crude oil exposure affects air-breathing frequency, blood phosphate levels and ion regulation in an air-breathing teleost fish, *Hoplosternum littorale*. // Comp. Biochem. Physiol. Pars C: Pharmacol. Toxicol. Endocrinol., 1999. V.123, №2. - P.127-34.
15. Natarajan G.M. Changes in the bimodal gas exchange and some blood parameters in the air-breathing fish, *Channa striatus* (Bleeker) following lethal (LC50-48h) exposure to metasytox (demeton). // Curr. Sci., 1981. V.50. - P.40-41.
16. Arunachalam S., Palanichamy S. Sublethal effects of carbaryl on surfacing behaviour and food utilization in the air-breathing fish, *Macropodus cupanus*. // Physiol. Behav., 1982. V.29. - P.23-27.
17. Bakhavathsalam R., Reddy Y.S. Changes in bimodal oxygen uptake of an obligate air breather *Anabas testudineus* (Bloch) exposed to lindane. // Water Research, 1983. V.17. №10. - P. 1221-1226.
18. Bakhavathsalam R., Reddy Y.S. Toxic effects of disyston and furadan on the bimodal pattern of oxygen consumption in the climbing perch, *Anabas testudineus* (Bloch). // Water Research, 1985. V.19, №9. - P.1195-1198.
19. Santhakumar M., Balaji M. Acute toxicity of an organofosphorus insecticide monocrotophos and its effects on behaviour an air-breathing fish *Anabas testudineus* (Bloch). // J. Environ. Biol., 2000. V.21. - P.121-123.
20. Cong N.V., Phuong N.T., Bayley M. Effects of sublethal concentrations of diazinon on surfacing and hanging behaviors of snakehead *Channa striata*. // Fisheries science, 2008. V.74. - P. 1330-1333.
21. Pandey R.K., Singh R.N., Singh S., Singh N.N., Das V.K. Acute toxicity bioassay of dimethoate on freshwater airbreathing catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). // J. Environ. Biol., 2009. V.30. №3. - P.437-440.
22. Kulakkattolickal A.T., Kramer D.L. The role of air breathing in the resistance of bimodally respiring fish to waterborne toxins. // J. Fish Biol., 1988. V.32. №1. - P.119-127.
23. Chiayvareesajja S., Chiayvareesajja J., Rittibonbun N., Wiriyachitral P. The toxicity of five native Thai plants to aquatic organisms. // Asian Fisheries Science, 1997. №9. - P.261-267.
24. Singh R.N., Pandey R.K., Singh N.N., Das V. K. Acute toxicity and behavioral responses of common carp *Cyprinus carpio* (Linn.) to an organophosphate (dimethoate). // World Journal of Zoology, 2009. V.4. №2. - P.70-75.
25. Лукьянов А.С., Сопов Ю.Н. Устройство для регистрации воздушного дыхания водных животных. Авторское свидетельство на изобретение SU № 1172508. Бюл. 30 от 15.08.85.
26. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. М.: «Колос», 1971. - 247 с.
27. Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. М.: Легкая и пищевая промышленность. 1983. - 320 с.

Lukyanov A.S.

Air-breathing fish in early warning systems for water toxicity monitoring

Department of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University

A possibility to use air-breathing fishes is considered in systems performing a continuous monitoring of water quality in sites of water consumption and aimed at hazard early warning in case of a high level toxic contamination. Basing on literature references and author's own studies on intensity of air-breathing in *Macropodus opercularis* L. under normal conditions and at poisoning by phenol, a conclusion is drawn that air-breathing fishes are perspective to be used as biosensors in such systems.

Материал поступил в редакцию 10.09.2010 г.

Влияние гербицида Раундап in vitro на активность карбогидраз молоди рыб

Голованова И.Л.,
Филипов А.А.,
Аминов А.И.

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

Исследовано влияние сублетальных концентраций гербицида Раундап 0,1–50,0 мг/л (по глифосату) на активность карбогидраз (амилолитическую активность и активность сахаразы) в слизистой оболочке и содержимом кишечника, а также в целом организме молоди рыб в условиях in vitro (температура 20°C, pH 7,4). Установлено, что карбогидразы слизистой оболочки кишечника более чувствительны к токсическому действию Раундапа по сравнению с одноименными ферментами химуса и целого организма. Раундап оказывает больший токсический эффект на активность карбогидраз в тканях реальной жертвы по сравнению с таковыми потенциальной жертвы. Величина и направленность эффектов зависят от концентрации токсиканта, вида рыб и спектра ферментов, участвующих в гидролизе углеводов.

Ключевые слова: гербицид, Раундап, глифосат, молодь рыб, пищеварительные карбогидразы, амилолитическая активность, активность сахаразы

Введение. В настоящее время гербициды применяются не только для уничтожения сорной растительности на посевах сельскохозяйственных культур, но и для борьбы с зарастанием водохранилищ, прудов и каналов. Попадая в воду, а затем в организм гидробионтов, они включаются в метаболизм и могут вызывать нарушения процессов жизнедеятельности и физиологического обмена. Раундап — один из самых известных гербицидов, созданный на основе изопропиламиновой соли глифосата [N-(phosphonomethyl) glycine] — высокотехнологичного системного гербицида широкого спектра действия. В последние годы накоплено большое количество данных о токсичности Раундапа для водных организмов, в том числе и для рыб [1, 2, 6, 7]. Известно о негативном влиянии Раундапа на растения и беспозвоночных животных, входящих в состав кормовой базы рыб различных экологических групп [4, 6, 9]. В то же время, влияние гербицида Раундап на процессы гидролиза углеводов, играющих важную роль в энергетическом и пластическом обмене, у рыб практически не изучено.

Цель настоящей работы состояла в изучении in vitro влияния гербицида Раундап в сублетальных концентрациях (0,1–50,0 мг/л) на активность карбогидраз кишечника и целого организма молоди рыб.

Материал и методы исследования. В качестве объектов исследования использована молодь 5 видов рыб, наиболее распространенных в пресных водоемах и служащих объектами питания типичных и факультативных икhtiофагов: тюлька *Clupeonella cultriventris* (Nord.) (масса 0,55±0,03 г), щука *Esox lucius* L. (9,64±0,92 г), плотва *Rutilus rutilus* (L.) (0,25±0,01 г), карп *Cyprinus carpio* (L.) (17,00±2,16 г) и окунь *Perca fluviatilis* L. (0,63±0,05 г). Рыб отлавливали в июле – августе 2009 г. в прибрежной зоне Рыбинского водохранилища. Карп выращен на стационаре полевых и экспериментальных работ ИБВВ РАН. Всего исследовано по 50 экз. сеголетков тюльки, плотвы и окуня, и по 12 экз. двухлеток щуки и карпа. После отлова рыб в течение 1–2 ч доставляли в лабораторию (иногда предварительно замораживали и хранили при температуре –18°C не более двух недель).

Для определения ферментативной активности бездвиженных рыб помещали на стекло ледяной бани, изымали кишечник и освобождали его от содержимого (химуса). Слизистую оболочку средней части кишечника снимали пластмассовым скребком и перемешивали. Химус средней части кишечника также тщательно перемешивали. У другой части рыб, которых рассматривали в качестве кормовых объектов, активность ферментов определяли во всем организме. Для этого всю тушку измельчали ножницами, тщательно перемешивали и отбирали аликвоту для приготовления ферментативно-активных препаратов. При помощи стеклянной гомогенизатора готовили суммарные гомогенаты, объединяя навески слизистой оболочки кишечника, химуса или целых тушек от 6–25 экз. каждого вида, с добавлением охлажденного до 2–4°C раствора Рингера для холоднокровных животных (110 ммоль NaCl, 1,9 ммоль KCl, 1,3 ммоль CaCl₂, pH 7,4) в соотношении 1:9. Затем исходный гомогенат дополнительно разводили раствором Рингера в 2–10 раз. Растворы субстратов (растворимый крахмал в концентрации 18 г/л и раствор сахарозы в концентрации 50 ммоль/л) готовили на таком же растворе Рингера. Инкубацию гомогената и субстрата проводили в течение 30–60 мин при температуре 20°C, pH 7,4. Гомогенаты предварительно инкубировали в присутствии растворов Раундапа определенной концентрации (в контроль вместо токсиканта добавляли равное количество раствора Рингера) в течение 1 часа. Концентрации Раундапа, рассчитанные по содержанию глифосата, составляли 0,1; 1,0; 10,0; 25,0 и 50,0 мг/л.

Для приготовления растворов токсиканта использовали коммерческий препарат гербицида, имеющий торговое название «Раундап» (произведен и расфасован ЗАО фирма «Август» (Россия) по лицензии фирмы «Монсанто Европа С. А.» (Бельгия)). Средство представляет собой 36%-ный водный раствор глифосата. Возможные инертные ингредиенты, усиливающие действие активного элемента или облегчающие использование гербицида в аннотации не указаны. Выбор тестируемых концентраций 0,1–50,0 мг/л был обусловлен установленными значениями ПДК для воды рыбохозяйственных водоемов (0,001 мг/л), а также значениями 96 ч LC₅₀ Раундапа для рыб (от 86 до 168 мг/л) [7, 8].

Активность карбогидраз: амилолитическую активность (отражающую суммарную активность ферментов (α-амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и мальтазы КФ 3.2.1.20), гидролизующих крахмал, а также активность сахаразы КФ 3.2.1.48, гидролизующей сахарозу, оценивали по приросту гексоз модифицированным методом Нельсона [5]. Активность ферментов в суммарных пробах гомогената определяли в 5 повторностях и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/г мин). Результаты представлены в виде средних и их ошибок (M±m). Достоверность различий оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA, LSD test), p ≤ 0,05.

Результаты и обсуждение. Раундап в диапазоне исследованных концентраций достоверно снижает амилолитическую активность слизистой оболочки кишечника исследованных видов рыб на 11–28% от контроля, в большей степени у карпа, в меньшей у окуня (табл. 1). Активность сахаразы в слизистой оболочке кишечника плотвы достоверно повышается на 43–62% в диапазоне концентраций Раундапа 10–50 мг/л, у окуня - на 37–92% в более широком диапазоне концентраций (1–50 мг/л). У тюльки и карпа достоверные эффекты отсутствуют. Разнонаправленные эффекты Раундапа на активность ферментов, гидролизующих полисахарид крахмал и дисахарид сахарозу, по всей вероятности, обусловлены большим влиянием гербицида на активность панкреатической α-амилазы по сравнению с мембранными ферментами (глюкоамилаза, мальтаза и сахароза).

Активность карбогидраз химуса в присутствии Раундапа изменяется лишь у карпа: амилолитическая активность снижается на 14–26% (величина тормозящего эффекта возрастает по мере увеличения концентрации гербицида), в то время как активность сахаразы возрастает на 12–17% от контроля в присутствии Раундапа в концентрации 10–50 мг (табл. 2). У других

исследованных видов рыб достоверные эффекты отсутствуют, что хорошо согласуется с данными об устойчивости ферментов в тканях рачкового зоопланктона, которым питается молодь большинства видов рыб, к токсическому действию Раундапа [1]. Необходимо отметить, что активность карбогидраз в слизистой оболочке кишечника обусловлена преимущественно мембранными ферментами (мальтаза, сахароза) и частично адсорбированной из полости кишечника панкреатической α-амилазой. Активность карбогидраз химуса отражает активность ферментов, синтезируемых поджелудочной железой рыб и энтеральной микрофлорой, а также ферментов, привносимых тканями жертвы. Активность ферментов целого организма отражает не только активность ферментов пищеварительного тракта, но и многочисленных лизосомальных гидролаз всех органов и тканей.

При действии Раундапа на амилолитическую активность в целом организме молоди рыб достоверное повышение ферментативной активности отмечено лишь у плотвы (на 19–26%) и щуки (на 37–46% от контроля) при более высоких концентрациях гербицида 10–50 мг/л (табл. 3). Активность сахаразы достоверно повышается на 39–45% от контроля у плотвы при концентрациях Раундапа 25 и 50 мг/л.

Поскольку роль гидролаз жертвы особенно велика на начальных этапах желудочного пищеварения, изучали действие Раундапа на активность карбогидраз реальной жертвы (плотва) на начальной стадии пищеварения: покровы тела и плавники целы или частично разрушены), извлеченной из желудка щуки. Уровень амилолитической активности в тканях реальной жертвы составил 8,27±0,12, активность сахаразы - 0,77±0,05 мкмоль/г·мин. При действии Раундапа отмечен четкий концентрационно-зависимый ингибирующий эффект: амилолитическая активность снижается на 17–32%, активность сахаразы - на 59–69% от контроля по мере увеличения концентрации токсиканта. Лишь при самой низкой концентрации гербицида 0,1 мг/л отмечено достоверное повышение активности сахаразы на 64% от контроля. Противоположная направленность эффектов Раундапа на ферменты потенциальной и реальной жертвы обусловлена разной активностью карбогидраз при различных значениях pH (нейтральными в первом случае и кислыми во втором) и свидетельствует о возможности большего токсического влияния гербицида на гидролиз углеводов в условиях желудочного пищеварения.

Ранее установлены изменения биохимических показателей в печени карпа, свидетельствующие об увеличении роли белков в метаболизме при хроническом действии Раундапа в концентрации 0,004 мг/л (2 ПДК) [2]. Увеличение роли белков в метаболизме при действии Раундапа было продемонстрировано и в 15 суточных тестах на 4-х поколениях *Daphnia magna* [4]. Растворы гербицида в сублетальных концентрациях 25 и 50 мг/л (по глифосату) повышали протеолитическую и снижали амилолитическую активность гидролаз, расщепляющих белковые и углеводные компоненты в тканях рачков.

В нашей работе впервые исследованы изменения активности карбогидраз в слизистой оболочке и содержимом кишечника, а также в тканях молоди рыб различных экологических групп при действии in vitro Раундапа в широком диапазоне сублетальных концентраций 0,1–50 мг/л (температура 20°C и pH 7,4). Раундап оказывает большие токсические эффекты на карбогидразы слизистой оболочки кишечника молоди рыб по сравнению с одноименными ферментами химуса и целого организма. При этом наибольший эффект выявлен у карпа, в питании которого углеводы играют большую роль по сравнению с другими исследованными видами. Сравнение эффектов эквивалентных концентраций Раундапа в условиях in vitro показало, что карбогидразы в целом организме молоди рыб более чувствительны к токсическому действию гербицида по сравнению с одноименными ферментами рачкового зоопланктона [1]. Поскольку ферменты жертвы могут принимать участие в самопереваривании и служить дополнительным источником ферментов для консументов [3], снижение активности карбогидраз в тканях молоди рыб, особенно в условиях реального желудочного пищеварения, может значительно снизить вклад карбогидраз кормовых объектов в пищеварение типичных и факультативных икhtiофагов. Полученные результаты не только расширяют представления о токсичности гербицида Раундап, но и позволяют выявить негативные эффекты до появления видимых отклонений от нормы и прогнозировать последствия его влияния на гидробионтов.

Заключение. При исследовании in vitro активности ферментов, гидролизующих углеводы (амилолитическая активность и активность сахаразы), в кишечнике и в целом организме молоди некоторых видов рыб при действии гербицида Раундап в широком диапазоне концентраций 0,1–50 мг/л при температуре 20°C и pH 7,4 установлено, что карбогидразы слизистой оболочки кишечника более чувствительны к токсическому действию Раундапа по сравнению с одноименными ферментами химуса и целого организма. Раундап оказывает больший токсический эффект на активность карбогидраз в тканях реальной жертвы по сравнению с таковыми потенциальной жертвы. Величина и направленность эффектов зависят от концентрации токсиканта, вида рыб и спектра ферментов, участвующих в гидролизе углеводов.

Активность карбогидраз в слизистой оболочке молоди рыб ($M \pm m$)
в присутствии Раундапа в концентрации 0,1-50,0 мг/л (по глифосату)

Концентрация Раундапа, мг/л	Вид рыб				
	Плотва	Окунь	Щука	Тюлька	Карп
Амилолитическая активность, мкмоль/ г·мин					
0	57,2 ± 1,6 ^a	34,4 ± 1,2 ^{a,б}	0,89 ± 0,02 ^a	11,7 ± 0,3 ^a	228,8 ± 2,0 ^a
0,1	56,4 ± 3,5 ^a	37,6 ± 2,1 ^a	0,79 ± 0,02 ^б	10,3 ± 0,3 ^б	193,6 ± 3,9 ^б
1	52,4 ± 3,2 ^{a,б}	32,5 ± 2,6 ^{a,б}	0,78 ± 0,02 ^б	10,3 ± 0,5 ^б	179,2 ± 4,8 ^{б,в}
10	52,9 ± 1,1 ^{a,б}	31,2 ± 3,0 ^{a,б,в}	0,77 ± 0,03 ^б	9,51 ± 0,6 ^б	176,8 ± 8,6 ^{б,в}
25	47,2 ± 1,5 ^{б,в}	28,4 ± 3,1 ^{б,в}	0,74 ± 0,03 ^б	9,20 ± 0,5 ^б	173,6 ± 7,9 ^в
50	42,1 ± 1,9 ^в	24,8 ± 2,1 ^в	0,74 ± 0,01 ^б	9,10 ± 0,3 ^б	166,4 ± 4,7 ^в
Активность сахаразы, мкмоль/ г·мин					
0	1,16 ± 0,11 ^a	0,59 ± 0,04 ^a	–	0,64 ± 0,01 ^a	1,24 ± 0,09 ^a
0,1	1,09 ± 0,10 ^a	0,51 ± 0,03 ^a	–	0,68 ± 0,07 ^a	1,25 ± 0,11 ^a
1	1,24 ± 0,10 ^a	0,82 ± 0,03 ^б	–	0,63 ± 0,01 ^a	1,27 ± 0,04 ^a
10	1,66 ± 0,17 ^б	0,93 ± 0,04 ^б	–	0,67 ± 0,01 ^a	1,29 ± 0,05 ^a
25	1,80 ± 0,10 ^б	1,06 ± 0,04 ^в	–	0,66 ± 0,01 ^a	1,36 ± 0,13 ^a
50	1,88 ± 0,06 ^б	1,14 ± 0,06 ^в	–	0,67 ± 0,01 ^a	1,36 ± 0,10 ^a

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: $M \pm m$ – среднее значение показателя и его ошибка; разные надстрочные индексы указывают на статистически значимые отличия между показателями в столбце, $p < 0,05$; - данные отсутствуют.

Таблица 2

Активность карбогидраз в химусе кишечника молоди рыб ($M \pm m$) в присутствии Раундапа в концентрации 0,1-50,0 мг/л (по глифосату)

Концентрация Раундапа, мг/л	Вид рыб				
	Плотва	Окунь	Щука	Тюлька	Карп
Амилолитическая активность, мкмоль/ Г·мин					
0	85,6 ± 3,9 ^{а,б}	57,6 ± 4,7 ^а	0,99 ± 0,02 ^а	1,41 ± 0,27 ^а	183,2 ± 2,7 ^а
0,1	74,4 ± 4,3 ^а	65,6 ± 3,0 ^а	1,07 ± 0,04 ^а	1,33 ± 0,22 ^а	158,4 ± 3,3 ^б
1	85,5 ± 9,4 ^{а,б}	57,6 ± 4,5 ^а	1,06 ± 0,02 ^а	1,68 ± 0,07 ^а	153,6 ± 3,7 ^б
10	97,6 ± 8,5 ^б	58,0 ± 9,9 ^а	1,01 ± 0,02 ^а	1,52 ± 0,14 ^а	140,0 ± 3,4 ^б
25	85,6 ± 8,2 ^{а,б}	56,8 ± 3,9 ^а	1,01 ± 0,02 ^а	1,37 ± 0,23 ^а	139,2 ± 1,5 ^б
50	95,2 ± 5,6 ^б	59,2 ± 6,6 ^а	1,05 ± 0,05 ^а	1,68 ± 0,16 ^а	136,0 ± 5,5 ^б
Активность сахаразы, мкмоль/ Г·мин					
0	1,80 ± 0,02 ^{а,б,в}	0,32 ± 0,04 ^{а,б}	–	0,12 ± 0,01 ^а	1,11 ± 0,03 ^а
0,1	1,87 ± 0,04 ^а	0,30 ± 0,02 ^{а,б,в}	–	0,11 ± 0,01 ^а	1,16 ± 0,05 ^{а,б}
1	1,85 ± 0,10 ^{б,в}	0,32 ± 0,04 ^{а,б}	–	0,11 ± 0,01 ^а	1,15 ± 0,04 ^а
10	1,72 ± 0,10 ^б	0,22 ± 0,02 ^б	–	0,11 ± 0,02 ^а	1,24 ± 0,02 ^{б,в}
25	1,64 ± 0,06 ^{а,б}	0,37 ± 0,01 ^а	–	0,14 ± 0,01 ^а	1,28 ± 0,02 ^б
50	1,48 ± 0,05 ^{а,б,в}	0,28 ± 0,03 ^{б,в}	–	0,13 ± 0,01 ^а	1,29 ± 0,03 ^б

Активность карбогидраз в целом организме молоди рыб ($M \pm m$) в присутствии Раундапа в концентрации 0,1-50,0 мг/л (по глифосату)

Концентрация Раундапа, мг/л	Вид рыб			
	Плотва	Окунь	Щука	Тюлька
Амилолитическая активность, мкмоль/ г·мин				
0	9,07 ± 0,32 ^a	4,11 ± 0,07 ^{a,б}	3,93 ± 0,24 ^a	0,51 ± 0,03 ^a
0,1	10,0 ± 0,56 ^{a,б}	3,79 ± 0,32 ^{a,б}	4,07 ± 0,12 ^a	0,52 ± 0,03 ^a
1	10,20 ± 0,54 ^{a,б}	4,27 ± 0,17 ^{a,б}	4,33 ± 0,30 ^a	0,47 ± 0,03 ^a
10	10,80 ± 0,53 ^б	3,49 ± 0,45 ^a	5,40 ± 0,19 ^б	0,47 ± 0,02 ^a
25	11,07 ± 0,37 ^б	4,27 ± 0,44 ^{a,б}	5,53 ± 0,27 ^б	0,49 ± 0,03 ^a
50	11,40 ± 0,78 ^б	4,53 ± 0,40 ^б	5,73 ± 0,29 ^б	0,46 ± 0,02 ^a
Активность сахаразы, мкмоль/ г·мин				
0	0,72 ± 0,04 ^a	0,88 ± 0,09 ^a	0,28 ± 0,06 ^a	0,14 ± 0,02 ^a
0,1	0,82 ± 0,35 ^a	0,91 ± 0,08 ^a	0,39 ± 0,12 ^a	0,16 ± 0,01 ^a
1	0,81 ± 0,20 ^a	0,88 ± 0,18 ^a	0,27 ± 0,05 ^a	0,15 ± 0,01 ^a
10	0,82 ± 0,14 ^a	0,79 ± 0,03 ^a	0,29 ± 0,05 ^a	0,15 ± 0,01 ^a
25	1,00 ± 0,11 ^б	0,99 ± 0,07 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,13 ± 0,01 ^a
50	1,10 ± 0,09 ^б	1,10 ± 0,02 ^a	0,24 ± 0,03 ^a	0,15 ± 0,01 ^a

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голованова И.Л., Папченкова Г.А. Влияние гербицида Раундап на активность карбогидраз рачкового зоопланктона и молоди плотвы // Токсикологический Вестник. 2009. № 4. С. 32-35.
2. Жиденко А.А., Бибчук Е.В. Изменения биохимических показателей в печени карпа в условиях действия Раундапа // Совр. проблемы теорет. и практ. ихтиологии. Тез. II Межд. научно-практ. конф. Севастополь, 2009. С. 50-52.
3. Кузьмина В.В. Вклад индуцированного аутолиза в процессы пищеварения вторичных консументов на примере гидробионтов // Доклады РАН. 2000. Т. 339. № 1. С. 172-174.
4. Папченкова Г.А., Голованова И.Л., Ушакова Н.В. Репродуктивные показатели, размеры и активность гидролаз у *Daphnia magna* в ряду поколений при действии гербицида Раундап // Биология внутренних вод, 2009. № 3. С. 105-110.
5. Уголев А.М., Иезуитова Н.Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л.: Наука, 1969. С. 192-196.
6. Cox C. Glyphosate // Journal of pesticide reform. 2004. V. 24, № 4. P. 10-15.
7. Folmar L.C., Sanders H.O., Julin A.M. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates // Arch. Environ. Contam. Toxicology, 1979. V. 8.P. 269-278.
8. Smith E.A., Oehme F.W. The biological activity of glyphosate to plants and animals: A literature review // Vet. Hum. Toxicology, 1992. V. 34. № 6. P. 531-543.
9. Tsui M.T.K., Chu L.M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors // Chemosphere. 2003. V. 52. № 7. P. 1189-1197.

Golovanova I.L., Filipov A.A., Aminov A.I.

Influence of herbicide Roundup in vitro on the activity of carbohydrases in fish young

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Borok, Yaroslav Region

The effect of herbicide Roundup sub-lethal concentrations of 0.1-50.0 mg/l (as glyphosate) on the carbohydrases activity (amylolytic activity and saccharose activity) was investigated in vitro in the intestine mucous membrane and content as well as in the whole organism of the fish young (temperature 20°C, pH 7.4). It was found out that carbohydrases of the intestine mucous membrane are more sensible to the Roundup toxic impact as compared to like-named enzymes of chime and the whole organism. Roundup produces a more significant toxic effect on the carbohydrase activity in tissues of the real victim in comparison with a potential victim. The effect size and directionality depend on toxicant concentrations, fish species and range of enzymes participating in hydrocarbons hydrolysis.

Материал поступил в редакцию 19.04.2010 г.

Влияние ПХБ-содержащего препарата «Совтол» на биологические параметры ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* LillieborgГремячих В.А.,
Томиллина И.И.Институт биологии внутренних
вод им. И. Д. Папанова РАН,
Борок, Ярославская обл.

Изучено токсическое действие ПХБ-содержащего продукта химической промышленности «Совтол-10» на биологические параметры планктонных ракообразных *Ceriodaphnia affinis* Lillieborg. Выявлена достоверная отрицательная зависимость показателей средней продолжительности жизненного цикла и суммарной плодовитости рачков от концентрации токсического вещества: $r = -0,50, p \leq 0,001$ и $r = -0,42, p \leq 0,001$, соответственно. Установлены минимально действующие на показатели жизнедеятельности цериодафний концентрации ПХБ при разведении в воде $< 0,00003$ мкг/л; при добавлении ДМСО $- 0,016$ мкг/л.

Ключевые слова: полихлорированные бифенилы, токсичность, цериодафнии

Введение. ПХБ и содержащие их препараты производились в бывшем СССР в 1939-1995 гг. в массовом количестве. Их использовали преимущественно в производстве диэлектрических жидкостей, на 80% состоящих из полихлорированных бифенилов (ПХБ), которые выпускались под марками «Совтол» и «Совтол». В эксплуатации и резерве в настоящее время находятся более 200 тыс. трансформаторов и конденсаторов, содержащих около 18 тыс. т ПХБ масел [7].

ПХБ относятся к группе стойких органических загрязнителей (СОЗ), опасных для окружающей среды и здоровья населения, мониторинг которых является обязательным в развитых индустриальных странах [9]. Ограничения или запрещения по использованию ПХБ не привели к существенному снижению их содержания в природных средах. Считается, что концентрация ПХБ в незагрязненных пресных водах не должна превышать 0,5 нг/л, а в умеренно загрязненных – 50 нг/л [3].

ПХБ устойчивы к гидролизу и биотрансформации в воде, но при фотолитизе на солнечном свете в процессе ряда последовательных реакций могут образовывать гораздо более токсичные диоксины. Главная опасность ПХБ для человека и животных заключается в хронических токсических эффектах. Они оказывают иммунотоксическое и тератогенное действие, нарушают репродуктивную и пищеварительную функции, поведение [12].

Цель работы – оценить токсическое действие ПХБ-содержащего продукта химической промышленности «Совтол-10» на биологические параметры планктонных ракообразных *Ceriodaphnia affinis* Lillieborg.

Материалы и методы исследования. В качестве источника ПХБ использовали промышленный продукт «Совтол-10», содержащий до 80% ПХБ и трихлорбензолы. Для повышения растворимости вещества в воде применяли диметилсульфоксид (ДМСО). Эксперимент проводили в 3-х вариантах:

- 1 – раствор «Совтола» в концентрации 3 мг/л
- 2 – раствор ДМСО – 0,5 мг/л
- 3 – смесь веществ: 3 мг «Совтола» на 1 л раствора ДМСО в концентрации 0,5 мг/л.

Градиент необходимых концентраций получали путем последовательного разведения маточных растворов, а также их смеси отстоянной водопроводной водой. Для этого в каждой серии готовили 5 разведений исходных растворов 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000.

Количественное определение ПХБ проводили методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения (ХМС ВР) [5]. В связи с плохой растворимостью реальная концентрация ПХБ в водном растворе составила 0,3, в присутствии растворителя ДМСО – 160 мкг/л.

Токсичность оценивали методом биотестирования на планктонных рачках *Ceriodaphnia affinis* Lillieborg в соответствии с требованиями нормативного документа [4]. Регистрируемые показатели - выживаемость, средняя индивидуальная плодовитость за неделю, размеры животных в первом и четвертом-пятом поколениях, продолжительность жизненного цикла, индивидуальная плодовитость за весь жизненный цикл.

Все опыты проводили в непроточных условиях, в 2-х повторностях. В ходе эксперимента поддерживали оптимальные условия среды: температуру воды $21 \pm 3^\circ\text{C}$, рН 7,5 – 8,0, содержание растворенного кислорода 6,0 – 7,5 мг/л. Контролем служила отстоянная водопроводная вода.

Данные представляли в виде средних значений и их ошибок (\pm). Результаты обрабатывали статистически, используя метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и процедуру LSD-теста при уровне значимости $p < 0,05$. Корреляционный анализ результатов проводили с помощью пакета программ STATGRAPHICS Plus 2.1 [12].

Результаты и обсуждение. К концу первой недели эксперимента наблюдалась 100% гибель животных в растворе без разведения и при разведении 1/10, к концу второй – достоверно более низкая выживаемость в растворе с разведением 1/100, к концу третьей – с разведением 1/1000 и 1/10000, при 100% гибели рачков в растворе с разведением 1/100 (табл.1). Для смеси веществ отмечена достоверная отрицательная концентрационная зависимость показателя выживаемости цериодафний ($r = -0,50, p < 0,001$). Зависимость между показателем средней продолжительности жизненного цикла цериодафний и концентрацией токсического вещества отмечена в растворах смеси ДМСО и «Совтола» ($r = -0,61, p < 0,001$).

Линейные размеры половозрелых цериодафний в I (исходном) поколении в контроле достоверно превышали таковые в большинстве растворов веществ и их разведений, в IV-V – во всех опытных группах животных (табл.2).

Показатель плодовитости цериодафний в первую неделю жизни в растворах ПХБ и ДМСО, а также в их смеси в разведении 1/1000 и 1/10000 статистически значимо превышал контрольные значения (табл.3) и только в растворе смеси 1/100 был достоверно ниже. Во вторую и третью неделю эксперимента стимуляция плодовитости сменилась её угнетением в растворах всех веществ и концентраций (за исключением «Совтола» в разведении 1/10 во вторую неделю), к концу пятой – животные из контрольных и опытных групп по этому показателю не различались. Достоверная отрицательная зависимость между суммарной плодовитостью животных и концентрацией токсического вещества отмечена для смеси $r = -0,42, p < 0,001$. Снижение показателя суммарной плодовитости рачков происходило, в основном, за счет абортирования яиц, за исключением растворов ДМСО в разведении 1/10000 и смеси 1/100, в которых, соответственно, уменьшались продолжительность жизненного цикла и число пометов (табл.3). В данном случае реакцию абортирования яиц следует рассматривать не столько как безусловный (генетически закрепленный) рефлекс спасения потомства, а как функциональный отклик на отравление, поскольку абортированные яйца в дальнейшем развиваться во внешней среде не могут и погибают [2].

Растворитель диметилсульфоксид, добавленный в воду для повышения растворимости ПХБ, согласно литературным данным, малотоксичен для животных. Так, при экспозиции амфиод *Hyalella azteca* в течение 21 сут в растворе ДМСО с концентрацией 10 мг/л не зарегистрировано гибели, при 4 мг/л после 10-недельной экспозиции не отмечено достовер-

ных отличий в изменении линейных размеров и плодовитости по сравнению с контрольными животными [8]. По результатам проведенного нами эксперимента добавление в воду ДМСО в малых концентрациях негативно влияло на продолжительность жизненного цикла и плодовитость животных. Аналогичные тенденции отмечены и для водных растворов ПХБ. Острую токсичность, как в случае с *Daphnia magna* под воздействием коммерческой смеси ПХБ в диапазоне концентраций 2-283 мкг/л [9], не наблюдали. Причиной уменьшения численности животных в эксперименте могло быть не прямое (летальное) действие токсических веществ на жизненно важные функции, а относительно длительное воздействие их «малых» доз, вызывающее репродуктивные эффекты, проявляющиеся в снижении или прекращении воспроизводства.

Отрицательные дозозависимые реакции на воздействие токсикантов отмечены только для смеси «Совтола» и ДМСО. Снижение функциональных показателей цериодафний (выживаемости, плодовитости) наблюдали как при малых, так и при больших разведениях растворов «Совтола» и ДМСО. Известны случаи, когда эффект от воздействия токсических веществ в очень большом интервале концентраций от них не зависел. Так, при исследовании влияния гербицида из класса пероксидов на культуру растительных клеток, было обнаружено, что препарат проявляет одинаковую активность при концентрациях, различающихся на шесть порядков, а в интервале промежуточных концентраций эффект от его воздействия отсутствует [1].

В комплексе изменений, происходящих в биологической системе при интоксикации, сочетаются как адаптивно-компенсаторные реакции, направленные на ослабление или компенсацию этого поражения, так и деструктивные процессы, представляющие собственно механизм токсического поражения. Состояние биологической системы оценивается по некоторым частным показателям, в изменении которых находит отражение преобладание деструктивных или адаптивно-компенсаторных процессов и, соответственно, разная степень вероятности выживаемости индивидуума и популяции. «Активное реагирование» может приводить к ускорению роста, повышению выживаемости и выхода жизнеспособного потомства. Гибель, сокращение плодовитости, появление морфологических аномалий, не совместимых с жизнью, отражают итоговое преобладание «пассивного реагирования» [6].

Заключение. Дозозависимые реакции рачков *C. affinis* на воздействие токсикантов отмечены для растворов смеси «Совтола» и ДМСО. Выявлена достоверная отрицательная зависимость показателей средней продолжительности жизненного цикла и суммарной плодовитости цериодафний от концентрации токсического вещества: $r = -0,50, p \leq 0,001$ и $r = -0,42, p \leq 0,001$, соответственно.

Установлены минимально действующие концентрации ПХБ для жизнедеятельности цериодафний при разведении в воде $< 0,00003$ мкг/л; при разведении в ДМСО $- 0,016$ мкг/л.

Авторы выражают глубокую благодарность к.б.н. А.В. Герману за определение содержания ПХБ в экспериментальных растворах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 08-05-00805.

Таблица 1

Влияние Совтола-10 и ДМСО на выживаемость цериодафний

Вещество	Разведение	Выживаемость к концу недели, %			Продолжительность жизненного цикла, сут
		1-ая неделя	2-ая	3-я	
Совтол-10	1/10000	85 ± 5	60 ± 10	35 ± 5'	18.6 ± 2.9*
	1/1000	85 ± 5	55 ± 5'	35 ± 5'	23.5 ± 3.7'
	1/100	100 ± 0	100 ± 0	85 ± 5	37.3 ± 2.6
	1/10	100 ± 0	100 ± 0	85 ± 5	35.3 ± 2.5
	б/р	100 ± 0	95 ± 5	75 ± 5	31.2 ± 2.6
ДМСО	1/10000	100 ± 0	50 ± 0*	10 ± 10'	15.4 ± 0.9*
	1/1000	100 ± 0	75 ± 5	50 ± 0'	24.4 ± 2.5
	1/100	100 ± 0	100 ± 0	90 ± 10	40.4 ± 2.8*
	1/10	100 ± 0	95 ± 5	70 ± 0	35.3 ± 3.2
	б/р	100 ± 0	95 ± 5	80 ± 10	36.0 ± 3.1
Совтол-10 + ДМСО	1/10000	90 ± 10	65 ± 5	45 ± 5'	26.8 ± 3.2
	1/1000	90 ± 10	65 ± 5	50 ± 10'	24.0 ± 2.9'
	1/100	30 ± 10*	30 ± 10*	0 ± 0'	6.5 ± 1.6'
	1/10	0 ± 0'	-	-	-
	б/р	0 ± 0*	-	-	-
Контроль		100 ± 0	95 ± 5.0	80±0	31.6 ± 2.4

здесь и в табл.2 и 3 даны средние и их ошибки ($\bar{x} \pm SE$);

* - достоверные различия при уровне значимости $p = 0.05$

**Линейные размеры половозрелых церидафний в I и IV-V поколениях
в опытных и контрольных вариантах**

Вещество	Разведение	Поколение	
		I	IV-V
Совтол-10	1/10000	1.19±0.02*	1.02±0.02*
	1/1000	1.28±0.01*	0.93±0.05*
	1/100	1.14±0.03*	-
	1/10	1.26±0.01	1.06±0.03*
	б/р	0.87±0.05*	1.0±0.03*
ДМСО	1/10000	1.26±0.02	1.0±0.04*
	1/1000	1.23±0.02*	0.96±0.03*
	1/100	1.25±0.02*	1.0±0.03*
	1/10	1.28±0.02	0.93±0.03*
	б/р	1.23±0.02*	1.0±0.02*
Совтол-10+ ДМСО	1/10000	1.24±0.02*	0.99±0.04*
	1/1000	1.32±0.03	0.98±0.05*
	1/100	1.27±0.01	1.02±0.03*
	1/10	-	-
	б/р	-	-
Контроль		1.32±0.02	1.32±0.02

Таблица 3

Плодовитость цериодафний в опытных и контрольных вариантах

Вещество	Разведение	Плодовитость по неделям эксперимента, % контроля					Σ плодовитость за жизненный цикл, экз.	Среднее число пометов на 1 самку за весь жизненный цикл	Среднее число сброшенных пометов за 2 и 3 недели
		1-ая неделя	2-ая	3-я	4-ая	5-ая			
Совтол-10	1/10000	211.6±40.3*	20.5±4.4*	30.7±8.6*	68.3±18.8	74.2±22.5	42.7±8.8*	22.7±7.5	14.2±7.2
	1/1000	234.9±37.5*	11.7±3.2*	30.3±5.6*	59.3±10.1*	49.0±15.8*	42.2±8.3*	21.7±5.9	7.4±7.4
	1/100	92.6±10.6	21.0±3.5*	22.8±3.9*	117.2±12.7	99.9±11.5	78.6±10.1*	25.7±2.2	51.4±2.3*
	1/10	86.4±10.2	79.4±11.2	65.1±7.5*	94.2±8.5	95.9±12.7	112.7±10.7	24.8±2.9	10.3±0.2
	б/р	69.5±5.1	65.0±6.5*	17.6±2.4*	29.0±3.7*	57.2±7.6*	50.4±5.2*	22.4±4.3	26.2±5.9*
ДМСО	1/10000	210.5±29.1*	27.6±6.7*	21.8±8.7*	18.8±18.8*	-	25.9±4.2*	9.6±1.4*	15.9±3.4
	1/1000	205.8±30.3*	54.5±8.5*	52.0±8.0*	76.5±20.2	71.4±11.9	73.6±10.7*	19.8±0.9	11.7±0.6
	1/100	74.9±8.2	57.6±6.3*	83.0±9.1	106.2±10.9	95.1±13.3	126.8±12.8	27.8±0.9	14.6±6.5
	1/10	78.6±7.5	70.2±11.4*	70.5±7.6*	86.4±6.6	76.8±9.6	112.1±11.8	28.8±1.7	7.8±2.7
	б/р	76.8±6.2	49.1±8.8*	18.5±2.3*	48.4±5.9*	104.2±9.8	64.7±8.1*	27.2±0.3	30.0±5.4*
Совтол-10 + ДМСО	1/10000	192.6±19.1*	34.8±5.3*	33.5±5.2*	99.7±15.1	79.4±19.9	58.5±9.6*	24.5±1.2	16.4±2.1
	1/1000	178.9±13.4*	25.4±6.7*	36.5±7.5*	104.1±16.6	96.2±17.2	50.8±10.9*	21.7±0.1	33.2±15.4*
	1/100	26.3±9.3*	43.2±19.1	20.4±5.3*	-	-	9.0±3.6*	5.5±1.5*	0
	1/10	-	-	-	-	-	-	-	-
	б/р	-	-	-	-	-	-	-	-
Контроль		100±14.1	99.8±9.9	99.9±10.4	99.8±12.8	100.2±26.3	126.9±12.9	19.9±2.7	4.6± 1.1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богатыренко Т. Н., Редкозубова Г. П., Конрадов А. А. и др. Влияние органических пероксидов на рост культивируемых клеток высших растений // Биофизика. 1989. Т. 34. № 26.
2. Брагинский Л.П., Величко И.М., Щербань Э.П. Планктон в токсической среде. Киев. Наукова думка. 1987. 180 с.
3. Майстренко В.Н., Ключев Н.А. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 2004. 323 с.
4. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости цериодафний. Федеральный реестр (ФР). ФР.1.39.2007.03221. М., «АКВАРОС». 2007. 56 с.
5. Сониясси Р., Сандра П., Шлег К. Анализ воды: органические микропримеси. Пер. с англ. Под ред. д. х. н., проф. В.А. Исидорова. СПб: Теза. 2000. 248 с.
6. Филенко О.Ф., Дмитриева А.Г., Исакова Е.Ф. и др. Механизмы реагирования водных организмов на воздействие токсических веществ // Антропогенные влияния на водные экосистемы. М., 2005. Т-во научных изданий КМК. С. 70-93.
7. Юсфин Ю.С., Леонтьев Л.И., Черноусов П.И. Промышленность и окружающая среда. М., Академкнига. 2002. 469 с.
8. Borgman U., Norwood W.P., Ralph K.M. Chronic toxicity and bioaccumulation of 2,5,2',5'- and 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl and Aroclor 1242 in the amphipod *Hyalella azteca* // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1990. V. 19. P. 558-564.
9. Mayer F.L., Mehrle P.M., Sanders H.O. Residue dynamics and biological effects of polychlorinated biphenyls in aquatic organisms // Arch Environ Contam. Toxicol. 1977. V. 5. P. 501-511.
10. Moore J.W., Ramamoorthy S. Organic chemicals in natural waters. Applied Monitoring and impact assessment. 1984. NY. Springer-Verlag. 290 p.
11. Sokal R. R., Rohlf F. J. Biometry. The principals and practice of statistics in biological research. NY.W.H. Freeman and Co. 1995. 887 p.
12. Tanabe S. PCB problems in future: foresight from current knowledge // Environ. Pollut. 1988. V. 50. P. 5-28.

Greymachikh V.A., Tomilina I.I.

Impact of the PCB-containing preparation SOVTOL on biological characteristics of crustacea *Ceriodaphnia Affinis* Lilleborg

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Borok, Yaroslavl region

A toxic action of PCB-containing chemical product «Sovtol» on biological parameters of *Ceriodaphnia affinis* Lilleborg was studied. It was revealed that there exists an authentic negative dependence of average life span and total fertility indicators of crustacea on the concentration of a toxic substance: $r=-0.50$, $p<0.001$ and $-r=-0.42$, $p<0.001$ respectively. PCB concentrations producing a minimal effect on indicators of *Ceriodaphnia* life activity were established when dissolved in water ~ 0.00003 mg/kg/l: with added DMSO-0.016 mg/kg/l.

Материал поступил в редакцию 20.08.2010 г.

СЪЕЗДЫ, КОНФЕРЕНЦИИ, СОВЕЩАНИЯ

О совместной рабочей группе ЮНЭП/ОЭСР по ПФС

5 сентября, г. Пекин (Китай)

5 сентября - в рамках Азиатско-Тихоокеанского Регионального Совещания по Стратегическому подходу к международному регулированию химических веществ -СПМРХВ в Пекине прошло заседание совместной рабочей группы Программы ООН по окружающей среде (ЮНЭП) и Организации Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР) по ПФС. Главной целью встречи, собравшей ведущих мировых экспертов в области безопасности химических веществ, стало: информирование экспертов, принимающих участие в реализации СПМРХВ из Азиатско-Тихоокеанского региона о последних регламентирующих действиях в отношении ПФС и иной деятельности в рамках ОЭСР, обмен информацией о соответствующих мероприятиях в Азиатско-Тихоокеанском регионе, совместное обсуждение деятельности, которая может быть реализована недавно созданной Глобальной ПФС Группой (например, поддержка развивающихся стран в этой области), более широкое освещение проблемы ПФС.

Термин ПФС объединяет перфторированные и полифторированные (многофтористые) химические соединения. С точки зрения химии ПФС представляют собой углеродные цепочки различной протяженности, в которых атомы водорода полностью (перфторуглерод) или частично (полифтористые соединения) замещены атомами фтора.

Соединение углерода и фтора настолько устойчиво, что ослабить его можно лишь колоссальным воздействием энергии. Поэтому многие ПФС слабо подвержены, а некоторые совершенно не подвержены разложению в окружающей среде. Некоторые из этих соединений могут быть уничтожены только при высокотемпературном горении с последующей фильтрацией отработанного воздуха.

ПФС не появляются самопроизвольно, их создает человек. Большинство ПФС производится с помощью так называемой теломеризации - особого процесса химического синтеза. Начиная с перфторэтилена C2F4 молекула постепенно удлиняется с одного конца. С помощью этого процесса сначала производят фторосодержащие мономеры, которые впоследствии могут быть переработаны во фторополимеры. Чтобы отличить их от соединений, полученных в результате электро-химического фторирования, эти мономеры также называют теломерами.

В ПФС также включаются так называемые фторосодержащие полимеры, наиболее известным и значимым представителем которых является политетрафторэтилен, более известный под названием тефлон (Teflon®). Фторосодержащие полимеры являются твердыми и могут подвергаться формовке и переработке. Они обладают водо-, грязе- и жиросталкивающие свойства, а также устойчивы к агрессивным химическим средам и характеризуются высокой теплоустойчивостью.

Приведенные выше соединения и продукты - это лишь примеры ПФС. В Организации Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР) в настоящее время ведется работа с 853 различными ПФС, включая 369 вещества, которые могут быть преобразованы в вызывающие беспокойство перфтороктансульфонат (ПФОС/PFOS) или перфтороктановую кислоту (ПФОА/PFOA).

Актуальность проблемы. В настоящее время потребители постоянно сталкиваются с этими соединениями - с так называемыми чудесами современной химии для домашнего хозяйства, теми, что не дают еде пригорать к посуде, удаляют пятна с мебели и ковров, заставляют дождевые капли стекать с наших плащей. Промышленность активно использует уникальные характеристики скольжения и теплостойкости этих соединений в производстве абсолютно всего - от самолетов и компьютеров до косметики и бытовых химикатов. Однако в последнее десятилетие мультимиллиардная индустрия ПФС, поддерживаемая такими всемирно известными брендами, как Teflon, Gore-Tex, Scotchgard и Stainmaster, привлекает пристальное внимание ученых и официальных лиц с точки зрения нормативного регулирования.

Подобное внимание обусловлено тем, что результаты исследований конца 1990-х возвели некоторые из ПФС в разряд высокотоксичных и необыкновенно стойких соединений, разлагающих кровь человека и оказывающих пагубное воздействие на живую природу. И чем дальше, тем все более очевидно, что отдельные ПФС встают в один ряд с дихлорзамещенными соединениями, полихлоробифенилами, диоксинами и подобными химикатами, как самые опасные из когда-либо производимых глобальных химических загрязнителей.

Сегодня ПФС ограничены в Европейском Союзе, США, Канаде, Австралии и других

странах. Еще в 2000 году Управление по охране окружающей среды США (EPA) жестко вытеснило с рынка страны ПФОС, который в качестве активного компонента, десятилетиями использовался в производстве популярных пятновыводителей и водоотталкивающих средств Scotchgard от 3М.

На четвертой сессии Конференции Сторон Стокгольмской конвенции о Стойких Органических Загрязнителях, которая состоялась в мае 2009 года, делегаты согласились с тем, чтобы добавить ПФОС, его соли и перфтороктановый сульфонил (ПФОСФ) к приложению В, подтверждая тем самым необходимость ограничений при его производстве и использовании. Стороны признали, что при том, что конечной целью является вывод из обращения ПФОС, ограниченное производство этих химических веществ может быть продлено, в том числе, для полупроводниковых покрытий, пены для пожаротушения, фотография, авиационных гидравлических жидкостей, металлопокрытий и некоторых медицинских приборов. Государства должны уведомить Секретариат Конвенции, намерены ли они продолжать производство этих соединений для упомянутых выше целей. Страны также имеют возможность обратиться за согласованием исключительных случаев использования ПФОС в производстве химических веществ.

В мае 2009 на второй сессии Международной конференции по Регулированию химических веществ (International Conference on Chemical Management – ICCM2) была принята резолюция П/5 по управлению перфторированными соединениями (ПФС) и переходу на использование менее опасных заменителей. Резолюция призывает правительства стран, международные организации и другие заинтересованные стороны рассмотреть вопрос о разработке, стимулировании и продвижении на открытой, прозрачной и всесторонней основе национальных и международных программ содействия и принципов регулирования с целью сокращения распространения и снижения содержания вызывающих озабоченность перфторированных соединений в выпускаемой продукции, а также содействовать их повсеместному выводу из употребления там, где это целесообразно и технически выполнимо.

Для обеспечения реализации этого решения ЮНЕП, Отдел технологии, промышленности и экономики ЮНЭП (DPIE), Сектор по химическим веществам (DPIE Chemical Branch) и ОЭСР создали партнерство и сформировали Глобальную ПФС Группу с участием представителей стран, присоединившихся к SAICM, а также неправительственных и других международных организаций. В эту группу также приглашены действующие члены ОЭСР, обеспокоенные проблемой ПФС.

5 сентября в Пекине на совместной рабочей группе ЮНЕП и ОЭСР Китай, Индия, Япония, Корея, Таиланд, Индонезия, Малайзия, Киргизия, а также одна неправительственная организация из Азиатско-Тихоокеанского региона представили презентации об уровне осведомленности, потребностях в информации и регулирующих практиках в области ПФС. Выступавшие отметили, что даже при наличии в настоящий момент немалого объема данных об измерениях ПФС в окружающей среде, по-прежнему существует весьма острая потребность в информации по ПФС – как технического, так и политического свойства.

Представители России, США и Германии рассказали о действиях, которые предпринимаются в их странах для контроля за ПФС. Представитель Департамента здоровья Правительства Австралии госпожа Снейя Сатия обнародовала результаты отчета ОЭСР по ПФС за 2009 год (следующий плановый отчет должен быть опубликован в 2012 году). Представитель DuPont и FluoroCouncil, господин Ричард Холт рассказал о работе, проделанной участниками совета по вопросам ПФС.

Россию на форуме в Пекине представляла Руководитель направления «Безопасность химической продукции» Координационно-информационного центра содействия предприятиям стран СНГ в вопросах безопасности химической продукции, кандидат технических наук Анна Макарова. Ее выступление было посвящено текущему состоянию законодательства Российской Федерации в части регулирования ПФС.

На территории России обращение перфторсодержащих веществ, регулируется положениями двух ратифицированных Конвенций – Хельсинской (ХЕЛКОМ) и Стокгольмской. При это в рамках ХЕЛКОМ, которая действует с 1998 года, среди 11 опасных соединений и групп соединений, представляющих особую опасность для Балтики, в том числе выделены ПФОА и ПФОС. Ратификация Стокгольмской конвенции произошла только в июне этого года, поэтому конкретных действий по перфторированным соединениям, включенным в эту конвенцию не так давно в РФ пока не предпринималось.

Помимо Конвенций в России некоторые из ПФС включены в различные СНИПы и СанПиНы. Так, согласно СанПиН 2.1.4.1074-01 «Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения» СЗНФ902 присвоен класс опасности 2 при нормативе 0,7 мг/л, СЗНФ1202 – тот же класс опасности при нормативе 1,0 мг/л. Гигиеническими нормативами, утвержденными постановлением Главного государственного санитарного врача, регулируются предельно допустимые концентрации в воде и в воздухе СЗНФ1302 и СЗНФ502. Что касается ограничений импорта в рамках Таможенного Союза России, Белоруссии и Казахстана, то в настоящее время действуют запреты и ограничения в основном на средства защиты растений в объеме Приложений А и В Стокгольмской Конвенции по СОЗ 2001 года и соответственно нет никаких запретов и ограничений по ПФС.

На заключительном этапе заседания состоялся «мозговой штурм», в ходе которого вырабатывались идеи по возможным направлениям деятельности вновь созданной Глобальной ПФС Группы ОЭСР и ЮНЭП, которая, по мнению участников встречи, могла бы оказать серьезную поддержку в разработке руководств по актуализации Национальных Планов Мероприятий в рамках Стокгольмской Конвенции.

В настоящий момент Глобальная ПФС Группа находится в стадии формирования. Перечень её компетенций был разослан координационным центром по СПМРХВ Комитетом ЮНЭП по химии и выложен на сайте СПМРХВ. Выдвижение и координирование участников Группы из Азиатско-Тихоокеанского региона будет осуществляться через региональные координационные центры. Что касается выдвижения региональных участников, то по плану оно должно быть завершено до конца сентября, после чего пройдет первая телеконференция, и в октябре-ноябре 2011 года будет разработана программа деятельности Группы.

В ходе обсуждения была четко обозначена необходимость регулярного информационного обмена, поэтому доступ к информации через ОЭСР ПФС WEB портал (OECD PFC Web Portal) был воспринят участниками с большим воодушевлением. Тем не менее, участники совещания признали потребность в сжатой структурированной информации, которая могла бы быть использована для повышения осведомленности о ПФС и помогла выработать общую политику в отношении этих соединений. Глобальная ПФС Группа, по мнению собравшихся, могла бы разработать следующие документы: сводный документ с научными обоснованиями в отношении ПФС;

- документ, обобщающий информацию о принципах регулирования ПФС, применяющихся в рамках ОЭСР;

- сводный документ по альтернативным заменителям.

Еще одним шагом к улучшению системы информирования будет дальнейшее наполнение портала ПФС (www.oecd.org/ehs/pfc), в том числе актуальной информацией из стран с развивающейся и активно формирующейся экономикой.

Необходимость расширения географии отчета ОЭСР по ПФС, включения в отчет сведений от тех компаний, которые до настоящего момента не принимали участия в обзоре, была отмечена собравшимися как шаг, который будет весьма полезен с точки зрения завершения формирования информационной базы по продукции, использованию и выбросам ПФС. Участники отметили, что было бы полезно разослать в разные страны анкету по отчету, и организовать в формате вебинара последующее обсуждение методологии отчета, что в совокупности станет серьезной поддержкой подобной деятельности.

Многие участники заседания отмечали, что в их странах ПФС не производятся и не перерабатываются, поэтому первостепенную важность для них представляет возможность больше узнать об импортируемой продукции, содержащей ПФС. Как следствие, наличие насыщенная потребность в информации, которая поможет идентифицировать такую продукцию. В этом смысле крайне полезным для всех мог бы стать документ, в котором были бы приведены основные области применения различных категорий ПФС. Кроме того, было предложено усовершенствовать систему маркировки продукции.

Участники заседания также подтвердили необходимость финансовой оценки затрат и выгод, связанных с ограничением ПФС.

Для поддержания диалога и обмена информацией должны быть разработаны вебинары по темам, представляющим интерес для Группы. Среди возможных тем этих вебинаров в ходе рабочей встречи были предложены следующие: принципы регулирования, научные исследования и альтернативные заменители. Отмечено, что на вебинарах последнего времени были освещены некоторые из этих тем, однако их необходимо повторить в ближайшем будущем с учетом запросов, высказанных на рабочей группе.

Участие в выработке Глобальной ПФС Группой методологических принципов рабо-

ты по ПФС станет одним из приоритетных направлений деятельности Группы. С учетом полученной обратной связи и в тесном взаимодействии с Секретариатом Стокгольмской Конвенции, с этой точки зрения, прежде всего, должны быть рассмотрены перфтороктансульфонаты.

Все эти наработки полученные в ходе заседания представляют большую ценность и значимость, они, безусловно, станут предметом обсуждений предстоящей работы Глобальной ПФС Группы ОЭСР и ЮНЭП.

В заключении необходимо отметить реакцию промышленности. Представитель компании DuPont господин Ричард Холт в своем выступлении на семинаре в Пекине отметил, что от многих клиентов компании, в том числе от основных мировых розничных игроков и мировых брендов, поступают настойчивые сигналы о том, что они определенно предпочитают продукцию, изготовленную без использования длинноцепочечных ПФС.

Такие розничные игроки как Wal-Mart и McDonalds заявляют о своем намерении использовать альтернативные продукты и упаковку, то есть НЕ содержащим перфтороктановую кислоту.

В 2007 году Wal-Mart кардинальным образом изменил ситуацию на рынке, заявив о начале действия политики тестирования на наличие химических соединений в продукции всех своих поставщиков. В рамках этой политики уделяется особое внимание стойким биологически накапливающимся токсинам (PBT), канцерогенам, мутагенам, токсинам, воздействующим на репродуктивную систему, формируется топ-3 список химических веществ «к исполнению» и подчеркивается, что в течение ближайших 2 лет этот список будет дополнен еще 17 веществами. Во многих отношениях эта инициатива может оказаться более действенной, чем любые инициированные правительства ограничения.

Таким образом, мы видим, что компании-производители будут в конечном итоге вынуждены задуматься над разработкой новых продуктов, не содержащих ПФС с длинной цепью.

Макарова А.С.
кандидат технических наук, Координационно-информационный центр содействия предприятиям стран СНГ в вопросах безопасности химической продукции



ХИМИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Перфторированные химические соединения

Различаются длинноцепочечные перфторированные соединения (LC PFCs) и короткоцепочечные (SC PFCs).

Длинноцепочечные перфторированные соединения подразделяются на две подкатегории: перфторалкилсульфонаты (PFAS) и перфторалкилкарбоксилаты (PFAC). Подкатегория PFAS включает перфторгексансульфоновую кислоту (PFHxS) перфтороктансульфоновую кислоту (PFOA), другие ее гомологи, соли и исходные вещества для ее синтеза (прекурсоры). Подкатегория PFAC включает перфтороктановую кислоту (PFOA), иногда называемую C8, другие более высокие гомологи, их соли и прекурсоры. По определению ОЭСР прекурсор означает вещество, способное деградировать в перфторкарбоновые кислоты с углеродом, имеющим длину цепи C8 и более высокоую или в перфторалкилсульфонаты с длиной цепи C6, включая PFHxS и PFOS. Некоторые прекурсоры потенциальных перфторалкилкарбоксилатов включают химические вещества, известные как фтортеломеры.

Перфторированные химические вещества созданы с помощью особой технологии и обладают особыми свойствами. Они находят широкое применение в промышленности и быту как водоотталкивающие средства и средства защиты тканей и ковровых изделий от жира и бензина, в чистящих препаратах бытового и промышленного применения, упаковочных материалах, в медицинском приборостроении, электронной, авиационной и других отраслях промышленности. Длинноцепочечные PFCs широко присутствуют в окружающей среде, дикой природе и в человеческом организме. Это крайне устойчивые соединения.

Проведенные за последние годы исследования выявили, что перфторированные химические вещества могут представлять значительную опасность для здоровья людей и окружающей среды. Их опасность возрастает с удлинением цепи углерода. Время полураспада в организме человека составляет от 4-х до 8-ми лет и более. Была установлена связь PFCs с развитием серьезных вероятных канцерогенов. В ходе исследований на животных выявилось, что PFCs стали причиной развития у животных заболеваний печени, поджелудочной железы, яичек и опухоли молочной железы. Имеются данные о том, что PFCs вызывают снижение массы тела новорожденных, которое считается фактором риска развития ожирения и сахарного диабета в последующем.

PFOS устойчивые, биоаккумулирующие соединения, токсичные для млекопитающих. Они устойчивы в окружающей среде, накапливаются в рыбах. Выявлена их умеренная токсичность для водных организмов. Существуют подтверждения его высокой токсичности для пчел. Для различных видов животных имеются различия в периодах полувыведения: 100 дней у крыс, 200 у обезьян и годы у людей. Параметры токсичности были одинаковыми у крыс и обезьян. Действие повторных доз приводит к гепатотоксичности и смертности. Двухдневный анализ на крысах показал, что воздействие PFOS приводит к гепатоклеточным аденомам и тиреоидным фолликулярным аденомам клетки. Эпидемиологические исследования показали связь воздействия PFOS с раком мочевого пузыря.

В настоящее время потенциальная опасность перфторированных химических соединений для человека и окружающей среды находится в центре внимания международного сотрудничества по химической безопасности.

В США регулирование перфтороктансульфонатов кислоты было предпринято в 1999-2000 г., после того как основной производитель PFCs компания 3M представила в Агентство по защите окружающей среды (EPA) данные о токсичности перфтороктансульфоната (PFOS) для репродуктивной системы крыс и широким присутствии этих веществ в крови человека, окружающей среде, а также об их в длительный период полураспада в организме человека. Компания 3M прекратила производство PFOS, перфтороктановой кислоты (PFOA) к концу 2002 г. В связи с этим другие американские компании начали принимать меры по снижению выбросов PFCs из производственных установок. В 2000 г. в рамках закона США о контроле токсичных веществ EPA ввела Правила относительно новых особых видов использования веществ, согласно которым в 2002 г. был ограничен выход на американский рынок 88 перфтороктансульфонатов и связанных с ними веществ, производство которых было приостановлено в 3M. Производители и импортеры веществ, внесенных в эти правила, должны уведомить EPA за 90 дней до начала их запуска в производство или выпуска на рынок. Данное ограничение и запрет не распространялись на некоторые виды использования, такие как фотографии/визуальное воспроизведение, производство электронных приборов, авиационная промышленность. В 2007г. эти правила распространялись на 183 перфторалкилсульфонатов. К прежним разрешенным видам использования были добавлены 7 веществ для протравки, гальванизации металлов и обработки поверхностей. В результате предпринятых мер Центр США по контролю за заболеваемостью выявил значительное снижение присутствия перфторалкилсульфонатов и перфтороктансульфоновой кислоты в крови людей по сравнению с 1999/2000 гг. В 2006 г. EPA приняла Программу PFOA 2010/15, целью которой является снижение на 95% выбросов предприятий во все среды и содержания в продуктах перфтороктановой кислоты, ее исходных материалов и гомологов по сравнению с уровнем 2000 г. В этой программе добровольно участвуют восемь промышленных компаний, производящих фторполимеры и фтортеломеры. EPA проводит исследования заменителей перфторированных химических веществ. К концу 2008 г. компании представили более 100 новых химических альтернатив для замещения соединений перфтороктановой кислоты.

В ОЭСР работы по PFOS были официально начаты в 2000 г. в рамках программы по существующим химическим веществам, после того как американская компания 3M объявила о прекращении производства перфтороктансульфоната. В то время работу по исследованию опасности перфторированных химических веществ в ОЭСР возглавили Англия и США. К 2002 г. был накоплен достаточный материал для классификации опасности воздействия PFOS и был разработан отчет об оценке опасности PFOS. На тот период было рекомендовано с осторожностью относиться к информации об опасности PFOS, поскольку перфторированные соединения представляли обширный еще мало изученный класс веществ, токсичность которых зависит от длины цепей углерода. Не было ясно, можно ли экстраполировать данные по опасности PFOS на другие перфторированные соединения, за исключением тех, которые могут деградировать в перфтороктансульфонат (PFOS).

Следующие обзоры ОЭСР по перфторированным химическим веществам были представлены в 2006 и 2009 г. на базе проведенных опросов и исследований, в которых принимали участие Италия, Швейцария, Япония Великобритания. Предметом изучения являлись перфтороктансульфонат (PFOS), перфторалкилсульфонат (PFAS) перфтороктановая кислота (PFOA), перфторкарбоновая кислота (PFCA), их соли, их присутствие в конечных продуктах, возможность уменьшения их выбросов, снижения риска их использования, регулирование этих веществ на национальном уровне. Следующий семинар по перфторированным соединениям должен состояться в 2011 г.

В 2009 г. ЮНЕП совместно с США организовала международный семинар по регулированию PFOS и переходу к более безопасным заменителям. Рекомендации, принятые на семинаре, были вынесены на обсуждение 2-ой Международной конференции по регулированию химических веществ (IMMC-2) в Женеве в 2009г., на котором была принята резолюция П/5 о необходимости регулирования PFCs, имею в виду их последующее изъятие из обращения и переход к более безопасным заменителям. В резолюции было предложено международным организациям и национальным правительствам разработать программы по снижению выбросов и содержания перфторированных соединений в продуктах. Было отмечено, что в рамках Стокгольмской конвенции перфторалкилсульфонаты и перфтороктансульфонилфторид были причислены к разряду опасных. На Конференции были доложены выводы отчетов ОЭСР по указанным веществам. Результаты реализации намеченных мероприятий по сни-

жению риска и ограничению перфторированных веществ будет рассмотрены на 3-ей Международной конференции по регулированию химических веществ в Женеве в 2012 г.

В 2009 г. на 4-ом совещании Конференции сторон Стокгольмской конвенции перфтороктансульфонат (PFOS), его соли и перфтороктансульфонилфторид (PFOSF), были внесены в перечень веществ, производство и применение которых подлежат ограничению (Приложение В Стокгольмской конвенции). Основанием явились запретительные меры, принятые в ряде стран, в том числе ЕС, США, Канаде, Австралии, в отношении этих веществ.

В рамках Роттердамской конференции на 7-ом заседании Комитета по рассмотрению химических веществ в 2011. был поставлен вопрос о внесении в Приложение III об ограничении и запрете опасных химических веществ Роттердамской конвенции перфтороктансульфоната натрия, аммониевой, литиевой соли, и соль дитанололамина) и его прекурсора перфтороктансульфонилфторида на основании уведомления о национальных регулирующих актах Канады, ЕС, Японии. Первый акт об ограничении PFOS был принят в Канаде в 1999г. и затем расширен в 2006 г. В уведомлении Канады было подчеркнуто, что в отличие от других СОЗ перфторированные вещества, а не липиды присутствуют в виде ионов в различных средах главным образом в протине печени и крови. Поэтому биоаккумуляция перфтороктансульфоната возможно не подчиняется типичным механизмам биоаккумуляции в тканях, богатых липидами.

В уведомлении ЕС было подчеркнуто, что после принятия соответствующих нормативных актов промышленное и профессиональное применение этих веществ снизилось в авиационной промышленности, фото печати, производстве полупроводников, гальванизации, пених огнетушителях. Запрещено выпускать на рынок PFOS в самостоятельном виде и в смесях в количестве равном или выше 0,005 % от общего веса. Если концентрация PFOS в продуктах равна или превышает 0,1 % от массы, эти продукты не могут поставяться на рынок. Ограничительные акты основываются на проведенных исследованиях, установивших, что перфтороктансульфонаты являются устойчивыми веществами, их присутствие было обнаружено в тканях рыб, диких птиц, поверхностных водах и донных отложениях, стоках водосточных сооружений, фильтрах свалок и отложениях. Данные о воздействиях, стоках в сыровотке крови рабочих уровень перфтороктансульфонатов выше, чем у населения в целом. Он также выше у живущих вблизи от промышленных предприятий.

Принятые управляющие акты в Японии запрещают производство, импорт и применение перфтороктансульфонатов и перфтороктансульфонилфторида. Японское правительство рассматривает эти вещества как устойчивые, высоко биоаккумулирующие и хронически токсичные для людей. Они отнесены к классу 1 особых веществ в рамках Закона о химических веществах Японии.

Во всех странах, в которых приняты ограничительные меры в отношении перфторированных химических веществ, их использование разрешается в следующих областях: фото-чувствительные материалы, протравочные вещества, фотопленки, производство полупроводников, пенные огнетушители, обработка поверхностей, гальванизация, производство полупроводников, авиационная промышленность

В результате обсуждения было принято решение предложить включить в Приложение III Роттердамской конвенции следующие перфторированные химические вещества, перфтороктансульфокислоту и ее соли соли-натриевую, аммониевую, литиевую, соль дитанололамина, перфтороктансульфонилфторид. Проекты документов для принятия решения по эти веществам запланировано обсудить на 8-ом заседании Комитете по рассмотрению химических веществ в марте 2012 г.

В сентябре 2011 г. в Пекине состоялось заседание совместной рабочей группы ЮНЕП и ОЭСР по перфторированным химическим веществам. На заседании было отмечено, что благодаря своим уникальным характеристика эти вещества находят самое широкое применение в промышленности и быту- от авиационной промышленности и электроники до бытовой химии и косметики. Однако в мире накоплено достаточно много данных о токсичности и опасности этих веществ для человека и окружающей среды. Внимание обращается на разработку их менее опасных заменителей. На заседание была создана Глобальная группа ЮНЕП/ОЭСР по перфторированным веществам, задача которой разработать глобальные подходы к производству и использованию этих веществ, имея в виду в дальнейшем их замену менее опасными заменителями

В Российской Федерации обращение перфторированных химических веществ регулируется Конвенцией по защите морской среды района Балтийского моря (Хельсинской конвенцией) 1998 г. и Стокгольмской конвенцией. В число 11 опасных веществ, определенных в Хельсинской конвенцией, включены PFOS и PFOA. Некоторые перфторированные химические вещества регулируются в Российской Федерации строительными нормами (СНИП) и Санитарными нормами и правилами, в которых устанавливаются предельно допустимые концентрации этих веществ в воде и воздухе. В рамках Таможенного Союза России, Белоруссии и Казахстана ограничения PFCs действуют в отношении средств для защиты растений.

Учитывая, что Российская Федерация ратифицировала Стокгольмскую конвенцию и присоединилась к Роттердамской конвенции по процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении некоторых химических веществ и пестицидов в международной торговле, проблемы регулирования производства, импорта и применения перфторированных химических веществ получат в России дальнейшее развитие.

Виноградова А.А.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Д-т UNEP/FAJ/CRC7/15 –Отчет о 7-ом заседании Комитета по рассмотрению химических веществ Роттердамской конвенции.
2. Long-Chain Perfluorinated Chemicals (PFCs) Action Plan
3. <http://www.epa.gov/existingchemicals/pubs/actionplans/ofcs.html>
4. U.S. Regulatory Actions and Risk Management Activities on Perfluorinated Chemicals Toni Krasnic, U.S. EPA. Workshop on Managing Perfluorinated Chemicals and Transitioning to Safer Alternatives, Geneva, 12-13 February 2009
5. Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and related products. History and Recommendations <http://www.oecd.org/documents>
6. OECD Portal on Perfluorinated Chemicals <http://www.oecd.org/site>
7. EPA Action on PFAS Compounds <http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/pfas.html>
8. Perfluoroalkyl Sulfonates; Significant New Use Rule <http://www.epa.gov/opptintr/chemtest/pubs/snur61>.
9. Long-Chain Perfluorinated Chemicals (PFCs) Action Plan. 2009
10. http://www.epa.gov/opptintr/existingchemicals/pubs/pfcs_action_plan1230_09.pdf
11. Рабочая группа ЮНЕП/ОЭСР по перфторированным перфторированным химическим веществам, Пекин, Китай, 5 сентября 2011г.
12. http://www.oecd.org/document/33/0,3746,n_21571361_44787844_44799777_1_1_1_1,00.html

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

Профессор Софронов Генрих Александрович (к 75-летию со дня рождения)

28 сентября 2011 г. исполняется 75 лет выдающемуся отечественному токсикологу, вице-президенту РАМН, председателю Северо-Западного отделения РАМН, директору Научно-исследовательского института экспериментальной медицины СЗО РАМН, заведующему лабораторией лекарственной и экологической токсикологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Заслуженному деятелю науки РФ, академику РАМН, доктору медицинских наук, профессору, генерал-майору медицинской службы в отставке **Генриху Александровичу Софронову**.

Софронов Г.А. родился в 1936 году в г. Краснотурьинске Свердловской области. В 1954 году с золотой медалью окончил среднюю школу и поступил на факультет подготовки врачей для Сухопутных и Ракетных войск Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. После окончания в 1960 году Военно-медицинской академии (ВМедА) в течение четырех лет проходил службу в Ракетных войсках стратегического назначения в должности врача полка. С 1964 по 1967 год учился в адъюнктуре при кафедре военно-полевой терапии ВМедА под руководством профессоров Н.В. Саватеева и М.Я. Михельсона. В 1967 году после окончания адъюнктуры и защиты кандидатской диссертации, посвященной изучению механизмов токсического действия фосфорорганических веществ, был назначен на должность младшего научного сотрудника научно-исследовательской лаборатории № 1 ВМедА, преобразованной в 1969 году в Научно-исследовательский институт военной медицины МО СССР. В НИИ военной медицины МО СССР он последовательно занимал должности старшего научного сотрудника, заместителя начальника отдела, начальника отдела и начальника научно-исследовательского управления. В 1978 году защитил докторскую диссертацию, связанную с изучением нейрхимических механизмов действия антихолинэргических психотомиметических веществ и разработкой на этой основе средств медицинской защиты, в 1983 году ему было присвоено ученое звание профессора по специальности «токсикология». В 1986 году вернулся в ВМедА, где возглавил кафедру военной токсикологии и медицинской защиты. О таланте Генриха Александровича как руководителя кафедрального коллектива свидетельствует тот факт, что за период с 1986 по 1996 год, когда он руководил кафедрой, только ее сотрудники выполнили 8 докторских и 15 кандидатских диссертаций.

Наряду с руководством кафедрой, с 1987 по 1996 год Г.А. Софронов одновременно был Главным токсикологом Министерства обороны СССР (РФ). В это время под его руководством и при его непосредственном участии были созданы, внедрены в промышленное производство и приняты на снабжение медицинской службы Вооруженных Сил СССР (РФ) новые медицинские средства защиты от боевых отравляющих веществ. Выполняя обязанности Главного токсиколога, Г.А. Софронов принимал непосредственное участие в испытаниях ядерного и химического оружия, в стратегических и тактических учениях, часто выезжал в командировки в войска и горячие точки, лично проводил изучение обстоятельств и последствий применения инкапсулянтов во время инцидента в Тбилиси (1989). За время действительной службы в армии, он прошел путь от курсанта ВМедА до доктора медицинских наук, профессора, генерал-майора медицинской службы.

После увольнения в запас Г.А. Софронов создал и по настоящее время возглавляет научно-исследовательскую лабораторию перфторуглеродов ВМедА, преобразованную в 2006 году в НИЛ лекарственной и экологической токсикологии Научно-исследовательского центра академии. В 1995 году Генрих Александрович был удостоен почетного звания «Заслуженный деятель науки РФ» и избран Ученым секретарем Ученого совета ВМедА. На этом посту он проработал более 15 лет, и именно здесь особенно ярко проявилась широта его научных интересов, добросовестность, стремление представить в наилучшем свете заслуги академии и ее сотрудников.

В 1993 году Г.А. Софронов был избран членом-корреспондентом РАМН и, по согласованному решению Президиумов РАН и РАМН, стал руководителем научного направления «Тропическая медицина» в совместном Российско-Вьетнамском тропическом научно-исследовательском и технологическом центре (Социалистическая Республика Вьетнам, г. Ханой). Руководство этим направлением он осуществляет и по настоящее время. В 1997 году Генрих Александрович был избран действительным членом (академиком) РАМН, а в 1998 г. – заместителем председателя Северо-Западного отделения (СЗО) РАМН. С 2000 года он возглавляет отдел экологической физиологии НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН. В сентябре 2009 года Г.А. Софронов назначен исполняющим обязанности председателя СЗО РАМН, а в марте 2011 года избран вице-президентом РАМН и председателем СЗО РАМН. С 2010 года является директором НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН.

Г.А. Софронов – известный ученый-токсиколог, внесший существенный вклад в изучение фундаментальных механизмов токсического действия синаптических ядов (психотомиметики, нервно-паралитические и сенсорные яды, конвульсанты различной химической структуры), в формирование новых научных направлений, таких как токсикологические проблемы химических катастроф, экологическая токсикология, исследования токсического влияния хлороорганических экотоксикантов на здоровье человека. Он автор и соавтор более 450 научных работ, 18 изобретений, 7 лекарственных средств для профилак-

тики и лечения химических интоксикаций, ряда учебно-методических пособий и руководящих документов для войск. Среди его учеников 26 докторов и 44 кандидата медицинских и биологических наук, многие из которых руководят токсикологическими центрами в нашей стране и за рубежом.

Г.А. Софронов – член экспертного совета ВАК РФ, редколлегий и редакционных советов журналов «Вестник Российской Военно-медицинской академии», «Медицинский академический журнал», «Клиническая медицина и патофизиология», «Биосфера», «Реаниматология», «Вестник РАМН», научных советов и проблемных комиссий ряда министерств и ведомств. Более 25 лет он является председателем диссертационного совета при ВМедА им. С.М. Кирова, с 2009 года руководит работой Санкт-Петербургского отделения Всероссийской общественной организации токсикологов. Постоянно принимает участие в организации и проведении российских и международных научных форумов, выступая как яркими, запоминающимися докладами.

За многолетний труд по укреплению обороноспособности нашей страны, за выдающиеся заслуги в научно-исследовательской деятельности, в воспитании и подготовке высококвалифицированных научно-педагогических кадров и крупные достижения в области токсикологии Г.А. Софронов награжден орденом Трудового Красного Знамени, орденом Дружбы Социалистической Республики Вьетнам, многими отечественными медалями и медалью «За боевое содружество» Республики Куба.

Генрих Александрович Софронов пользуется непререкаемым авторитетом и уважением у коллектива Военно-медицинской академии, Научно-исследовательского института экспериментальной медицины СЗО РАМН, членов Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук, токсикологической общности Санкт-Петербурга. Он замечательный друг, верный и надежный соратник в творческих делах, Учитель для своих сотрудников, Профессионал, беззаветно преданный науке. Свой юбилей он встречает полный творческих идей и замыслов.



Уважаемый Генрих Александрович!

Поздравляем Вас с днем рождения и желаем Вам успехов в работе на благо нашей Родины, новых достижений в науке, творческого долголетия, крепкого здоровья, счастья и удачи!

*Сотрудники Военно-медицинской академии
имени С.М. Кирова,
коллектив Научно-исследовательского института
экспериментальной медицины СЗО РАМН,
Всероссийская общественная организация токсикологов,
редакция журнала «Токсикологический вестник»,
друзья, коллеги и ученики*

Борис Александрович Кацнельсон (к 85-летию со дня рождения)

20 октября 2011 г. исполняется 85 лет со дня рождения заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора медицинских наук профессора **Бориса Александровича Кацнельсона**.

Трудовая биография Б.А. Кацнельсона началась в 1942 году в г. Новосибирске, где он работал мотористом лётно-испытательной станции авиазавода. После окончания в 1949 г. Челябинского медицинского института и прохождения в том же году специализации по промышленной гигиене при Центральном Институте усовершенствования врачей (Москва) он в течение 5 лет трудился по этой специальности в различных учреждениях гор. Челябинска. В 1954-1957 г.г. Б.А. Кацнельсон обучался в аспирантуре при Институте гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР и защитил кандидатскую диссертацию, посвящённую вопросам гигиены труда при загрузке доменных печей и экспериментальной оценке действия на организм образующихся при этом процессе пылевых частиц. С 1959 года по настоящее время он работает в Свердловском Институте гигиены труда и профзаболеваний, в дальнейшем реорганизованном в Екатеринбургский Медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий Роспотребнадзора, где руководил лабораторией промышленных аэрозолей, затем – отделом гигиены труда, а в настоящее время – отделом токсикологии и биологической профилактики. В 1968 году он защитил докторскую диссертацию по проблеме комбинированного действия вредных факторов в этиологии силикоза; в 1970г. получил звание профессора.

Б.А. Кацнельсон – автор 6 монографий и около 400 статей по различным вопросам гигиены труда, токсикологии, экологической эпидемиологии, многие из которых публиковались в зарубежных журналах. Он неоднократно выступал с докладами на международных научных конференциях.

Труды Б.А. Кацнельсона и его учеников внесли заметный вклад в изучение этиологии и патогенеза пневмоконкозов, а также токсикокинетики и токсикодинамики интоксикаций некоторыми металлами, на базе которого им было создано и развивается новое направление гигиенической науки, состоящее в повышении устойчивости организма к этим заболеваниям и названное «биологической профилактикой». Вместе с тем, должны быть отмечены успехи этого коллектива в разработке методологии установления ПДК и ОБУВ вредных веществ в воздухе рабочей зоны, в исследовании механизмов комбинированной токсичности, в математическое моделирование токсико-кинетических процессов, в экологической эпидемиологии и методологии оценки риска, в экономическом анализе эффективности профилактических мероприятий. Одними из первых в России Б.А. Кацнельсон и руководимый им коллектив активно включились в изучение токсикологии наноматериалов.

Труды Б.А. Кацнельсона характеризуются оригинальностью, глубиной анализа и серьёзностью теоретических обобщений. По перечисленным выше направлениям его учениками были защищены 25 кандидатских и 7 докторских диссертаций, причём и его ученики готовят научные кадры.

В результате исследований Б.А. Кацнельсона и его школы практика санитарного надзора получила ряд методических документов и значительное число гигиенических нормативов.

На протяжении длительного времени он являлся экспертом Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию и Комиссии по канцерогенным факторам при Роспотребнадзоре, членом правления Всероссийской общественной организации токсикологов и редколлегии журнала «Токсикологический вестник».

Эрудиция Б.А. Кацнельсона в разных областях гигиенической науки и практики, а также высокая порядочность и доброжелательность снискали ему искреннее уважение коллег и друзей.



Сердечно поздравляем Бориса Александровича с 85-летием и желаем ему здоровья и многих лет активной творческой жизни.
ФГУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий»
Территориальное управление Роспотребнадзора по Свердловской области
АНО «Уральский региональный центр экологической эпидемиологии»
Правление Всероссийской общественной Организации токсикологов
Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»

Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России): путь протяженностью в 40 лет

«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России) создан приказом Министра здравоохранения СССР в соответствии с постановлениями ЦК КПСС и СМ СССР в сентябре 1971 года в целях разработки научных основ медико-гигиенического обеспечения безопасности персонала производств химического оружия и экологической безопасности населения, проживающего в районах их расположения. В основу организации была положена прогрессивная идея комплексного решения теоретических и практических вопросов гигиены, токсикологии и профпатологии, связанных с особой опасностью боевых отравляющих веществ. Необходимо было разработать научно обоснованные требования санитарно-эпидемиологического надзора за производствами подобного класса опасности, а Волгоград наиболее подходил для этих целей в связи с развитием в этот период производства фосфорорганических отравляющих веществ на базе волгоградского ПО «Химпром» им. С.М. Кирова.

Уже к концу 70-ых годов в НИИ ГТП была создана уникальная научно-производственная база, предназначенная для одновременного и комплексного решения проблем гигиены, токсикологии и профпатологии, включающая наличие высококвалифицированных специалистов, уникальный производственный комплекс и современное лабораторное оснащение.

Основные медико-гигиенические исследования были выполнены на существовавших до 1987 года производствах химического оружия. В процессе проведения исследований выявились определенные различия с «обычными» химическими производствами в санитарно-гигиенических подходах к обеспечению безопасности персонала и населения как при лабораторных, так и особенно при промышленных условиях работы с отравляющими веществами.

После прекращения в стране производства химического оружия наличие научного коллектива с многолетним опытом работы с высокотоксичными химическими веществами и соответствующей материально-технической базы, позволило Институту успешно перейти к разработке вопросов медико-гигиенического обеспечения безопасности работ по уничтожению химического оружия в России. В результате были разработаны научные основы санитарно-гигиенического обеспечения безопасных условий труда персонала на объектах по уничтожению химического оружия и среды обитания населения ближайших территорий.

Период проектирования и ввода в эксплуатацию первого объекта уничтожения химического оружия в п.г.т. Горный Саратовской области занял более 10 лет (1989 по 2001 годы). В этот период был выполнен большой объем исследований по оценке токсичности реакционных масс и по разработке стандартов безопасности отравляющих веществ в различных средах. Были разработаны и утверждены 19 гигиенических нормативов, 12 химико-аналитических методик определения отравляющих веществ в различных объектах окружающей среды. Сотрудники Института приняли активное участие в разработке норм проектирования, строительства и эксплуатации экологически безопасных объектов уничтожения химического оружия, были выданы санитарно-гигиенические рекомендации по обеспечению безопасных условий труда на этих объектах.

За последнее десятилетие сотрудниками института экспериментально обосновано 59 гигиенических нормативов содержания высокотоксичных отравляющих веществ в различных средах, разработано 33 методики выполнения их измерений. Особо следует отметить новизну разработки методологий обоснования гигиенических нормативов химического загрязнения таких необычных сред, как строительные конструкции, зола после печей сжигания, снаряды. Выполнена эколого-гигиеническая экспертиза ряда проектов создания объектов уничтожения химического оружия, разработаны основополагающие нормативные документы, направленные на обеспечение безопасности производств по уничтожению химического оружия.

В результате разработана научно – методическая база гигиенического обеспечения процесса уничтожения химического оружия на всех последовательных этапах развития производства: проектирования, пуско-наладочного периода и эксплуатации.

С 2001 года сотрудники Института ведут активную международную деятельность: выполняются международные проекты в различных областях медицинской науки, в том числе проекты по дифференциальной диагностике острых отравлений химическими веществами,



математическому моделированию медико-биологических процессов, исследованию судьбы низких концентраций отравляющих веществ в объектах окружающей среды, разработке токсикологических критериев эффективности обезвреживания строительных конструкций помещений после химических терактов. Эти исследования выполняются совместно с учеными Канады, США и Великобритании.

В настоящее время Институт занимается реализацией научных направлений, определенных Федеральной целевой программой «Национальная система химической и биологической безопасности России» и Федераль-

ной целевой программой «Промышленная утилизация вооружения и военной техники».

Традиционным направлением научной деятельности института остается разработка и экспериментальное обоснование стандартов безопасности химических веществ в различных средах, мониторинг состояния здоровья персонала и факторов производственной среды особо опасных химических объектов, а также состояния здоровья населения территорий, прилегающей к особо опасным химическим объектам.

*Всероссийская общественная
организация токсикологов,
редакция журнала «Токсикологический вестник»,
друзья и коллеги сердечно поздравляют руководство
и сотрудников института с юбилеем и желают
сохранения славных традиций института и творческих
успехов на благо отечественной токсикологии.*

Доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач
Российской Федерации Сенцов Валентин Геннадьевич
(к 60-летию со дня рождения)



Сенцов Валентин Геннадьевич родился в 1951 году. В 1969 году поступил на лечебно-профилактический факультет Свердловского государственного медицинского института, который с отличием окончил в 1975 г. С 1976 г., после завершения интернатуры по терапии, по 1986 г. работал врачом токсикологом в центре лечения острых отравлений городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Свердловска. Сенцов В.Г. в 1986 г. успешно защитил кандидатскую диссертацию по специальности 14.00.37 – анестезиология-реаниматология на тему «Центральная гемодинамика и сократительная способность миокарда у больных с острыми отравлениями фосфорорганическими инсектицидами при различных методах хирургической детоксикации»

В 1987 г. избран на должность ассистента кафедры анестезиологии и реаниматологии факультета усовершенствования врачей (ФПК и ПП) Уральской государственной медицинской академии, где начал преподавать клиническую токсикологию для врачей анестезиологов и реаниматологов.

В 1991 году Сенцов В.Г. был назначен главным внештатным токсикологом МЗ Свердловской области. По инициативе Сенцова В.Г. проведена реорганизация токсикологической службы области: организован областной центр по лечению отравлений, центр по лечению острых отравлений в г. Екатеринбурге, межрайонные токсикологические центры на территории области. Создана система мониторинга острых отравлений на территории Свердловской области.

В 1995 г. Сенцов В.Г. защитил докторскую диссертацию по специальности токсикология на тему «Острые отравления клофелином (клиника, диагностика, лечение)».

В том же году Сенцов В.Г. был избран заведующим кафедрой профессиональных болезней и токсикологии ФПК и ПП. В 2003 г. кафедра была реорганизована в кафедру токсикологии и скорой медицинской помощи. С 2009 г. кафедра получила статус кафедры токсикологии ФПК и ПП УГМА.

Основные направления научной работы профессора Сенцова В.Г.: изучение первичного кардиотоксического эффекта при острых отравлениях, интенсивная терапия и реанимация при отравлениях уксусной кислотой, применение методов хирургической детоксикации при острых отравлениях, эпидемиология острых отравлений.

Сенцов В.Г. автор более 300 научных трудов, из них 17 монографий.

Под научным руководством Сенцова В.Г. защищено 6 докторских и 19 кандидатских диссертаций. Показателем признания научной школы профессора Сенцова В.Г. стала установившаяся с 1996 г. традиция проведения в Екатеринбурге российских и региональных научных конференций по клинической токсикологии (1996, 1998, 2002, 2005, 2008 гг.)

Сенцов В.Г. – врач высшей категории по специальностям токсикология и анестезиология-реаниматология, член Европейской ассоциации токсикологов (ЕАРССТ), Главный специалист токсиколог МЗ Свердловской области, главный токсиколог Уральского федерального округа.

Сенцову В.Г. присвоено почетное звание Заслуженный врач Российской Федерации

Глубокоуважаемый Валентин Геннадьевич!

Сердечно поздравляем Вас с знаменательной датой! Желаем крепкого здоровья, благополучия, дальнейших успехов на благо отечественной клинической токсикологии!

**Всероссийская общественная организация токсикологов
Редакция журнала «Токсикологический вестник»
Друзья и коллеги**

БЮЛЛЕТЕНЬ



Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Действие тиазинового красителя метиленового синего на дафний

Филенко О.Ф.,
Исакова Е.Ф.,
Самойлова Т.А.,
Гершкович Д.М.
МГУ им. М.В. Ломоносова

Введение. Тиазиновые красители давно используются в практике, в том числе – в качестве антисептических средств. В связи с этим исследуется их биологическое действие, где основным объектом исследований служат микрофлора и млекопитающие [1]. Механизм действия красителей на микрофлору связывают, в основном, с их фотохимическим преобразованием, переходом молекулы в возбужденное состояние и генерацией синглетного кислорода [2, 3, 4]. В связи с эффектом на млекопитающих особое внимание уделяется исследованию генотоксичности этих веществ [5] и образованию метгемоглобина при их действии [6].

Несмотря на относительно длительное использование в практике этих соединений ни в нашей стране, ни за рубежом они не исследовались в экологическом аспекте. В частности, не установлено критериев содержания проплавина и метиленового голубого в водной среде. Ограничен фонд сведений по эффекту этих соединений на обитателей водной среды. Имеющаяся информация преимущественно посвящена оценке кратковременных наблюдений последних воздействий относительно больших концентраций на рыб. В срок до 8 суток действующими оказались концентрации метиленового синего 400 – 1000 мг/л [7, 8, 9, 10]. Однако, основной экологический эффект от соединений с потенциальными мутагенными свойствами следует ожидать в более поздние периоды после начала экспозиции с учетом эффектов на потомство.

Целью представляемой работы служило испытание действия тиазинового красителя метиленового синего на рачков *Daphnia magna*, как представителя зоопланктона, в хронических условиях воздействия.

Материалы и методы исследования. Культивирование и применение ракообразных в токсикологических испытаниях проводили в соответствии с методическими рекомендациями [11, 12, 13]. Для культивирования дафний использовали отстоянную водопроводную воду. В качестве основного корма для дафний были использованы зеленые протокочковые водоросли *Chlorella sp.* В концентрации 250 – 300 тыс. кл./мл. Температура в опытах находилась в пределах 21–22 °С. Освещенность обеспечивалась люминесцентными лампами «Power-Glo» (основные спектральные линии 430, 530 и 600 нм) и «Sun-Glo» (основные спектральные линии 450 и 620 нм) при длине светового дня 12 часов. Спектральный состав освещения соответствовал составу солнечного света. Чувствительность рачков (ЛК₅₀ за 24 часа) к стандартному токсиканту – бихромату калия на время опытов составляла для дафний – 2,04 мг/л, что соответствует установленному стандарту качества тест-объекта.

В острых опытах оценивали эффект метиленового голубого (C₁₈H₁₈CIN₃S₂H₂O) в концентрациях 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,5, 5 и 10,0 мг/л. Для испытаний токсичности из лабораторной культуры дафний отбирали молодь рачков в возрасте не старше 24 часов. В стаканы на 100 мл растворов препаратов (по 3 стакана для каждой концентрации) помещали по 10 рачков. Контролем служил вариант испытаний с водой без добавления метиленового синего. В процессе кратковременных испытаний смены среды не проводили.

На основании результатов острого опыта были проведены исследования по оценке хронического действия препарата на выживаемость, плодовитость, качество потомства и рост дафний в трех поколениях. Для этого рачков в возрасте не старше 24 часов помещали по 5 экз. на 250 мл чистой воды или растворов вещества в концентрациях 0,003, 0,01, 0,02 и 0,1 мг/л. Повторность каждой серии была 4-х кратная. В ходе опытов растворы регулярно заменяли по 2 раза в неделю, а рачков ежедневно кормили суспензией водорослей. Продолжительность экспериментов с каждым поколением определялась временем появления у контрольных дафний 4-х пометов, в наших опытах она составляла 18 – 20 суток.

В опыте по оценке фототрансформации веществ растворы метиленового синего в концентрациях, соответствующих ЛК₅₀ за 24 часа, выдерживали в условиях, приближенных к естественному освещению, или в темноте. Через 3, 5, 10, 20 и 30 суток после разведения проводили определение токсичности этих растворов на *D. magna*. Изменение токсичности отражало степень трансформации исходного вещества.

Также была проведена серия острых испытаний эффекта красителя на рачков в темноте.

Результаты и обсуждение. Полулетальная концентрация метиленового синего за 24 часа (ЛК₅₀²⁴) составила 1,4 мг/л. Метиленовый синий в концентрации 1,0 мг/л вызывал 100% гибель рачков в течение 2-х суток опыта, а в концентрациях 0,1 мг/л и меньше не снижал выживаемости дафний по сравнению с контролем. Во всех трех поколениях при концентрации 0,1 мг/л отклонение смертности не превышало 20% по сравнению с показателем в контроле и это отклонение не было статистически достоверным (табл. 1).

Созревание и время появления пометов у дафний в присутствии метиленового синего совпадало по срокам с аналогичными показателями в контроле.

В таблице 2 приведены величины реальной плодовитости рачков за 4 помета в четырех поколениях в пересчете на одну самку. Метиленовый синий снижал плодовитость рачков в растворах с концентрациями 0,01; 0,02 и 0,1 мг/л во всех поколениях. Наибольший угнетающий эффект отмечен при максимальной из исследуемых в хроническом режиме концентрации 0,1 мг/л. Наряду с уменьшением численности молодежи происходило снижение ее токсикорезистентности. В ходе опыта с рачками первого помета 3-го поколения была отмечена их гибель в течение первых трех суток опыта, однако рачки 2-го помета этого же поколения оказались более устойчивыми, их выживаемость была на

уровне контроля. Патологических отклонений, связанных с эмбриональным развитием (абортивные яйца, уродливая молодь) отмечено не было.

В серии испытаний по фототрансформации вещества установлено, что после экспозиции растворов метиленового синего на свету токсичность снижалась на 95% менее, чем за 5 суток (табл. 3). При хранении в темноте это снижение достигалось за 40 суток.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что свет играет важную роль в изменении токсичности метиленового синего, приводящем к образованию в итоге менее токсичных продуктов. Предполагается, что именно в процессе трансформации с образованием синглетного кислорода реализуется токсичность метиленового синего. Возможно, что световое преобразование вещества проходит как в водном растворе, так и в тканях такого прозрачного существа, каким являются дафнии. Для оценки роли светового воздействия в токсическом действии метиленового синего был поставлен опыт по сравнению эффекта одной и той же концентрации токсиканта на свету и в темноте. В результате установлено, что при экспозиции в темноте токсичность вещества практически не отличается от токсичности, наблюдавшейся на свету (табл. 4). Это может свидетельствовать о том, что если свет и играет некоторую роль в проявлении токсичности метиленового синего для дафний, то она сводится к убыванию концентрации вещества в растворе и ослаблению его действия со временем.

Результаты проведенных испытаний позволили установить, что фотодинамический эффект не проявляется в механизме действия метиленового синего на дафний. Узкий диапазон перехода от нелетальной к абсолютнолетальной концентрациям свидетельствует о концентрационном механизме действия, который может иметь место, например, при метгемоглобинообразовании. Подавление размножения при действии концентраций, существенно более низких, чем летальные, и отсутствие эмбриональных нарушений может свидетельствовать о гонадотропном действии вещества.

Выводы. 1. Узкий диапазон перехода от недействующей концентрации метиленового синего к абсолютно летальной (в пределах одного порядка концентраций от 0,1 до 1 мг/л) может свидетельствовать о пороговом механизме действия вещества.

2. При действии всех концентраций, превышающих 0,003 мг/л, в четырех поколениях происходило статистически достоверное снижение плодовитости рачков.

3. Существенным фактором, влияющим на токсичность метиленового синего, является свет, который относительно быстро разрушает вещество в растворе.

4. Отсутствие различий остролетального действия метиленового синего на свету и в темноте свидетельствует о том, что эффект метиленового синего на рачков не связан с образованием синглетного кислорода.

5. Вероятно, летальное действие метиленового синего связано с образованием метгемоглобина, а эффект на размножение – за счет гонадотропного действия вещества.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы.

Таблица 1

Выживаемость *D. magna* (%) при действии метиленового синего в четырех поколениях при наблюдениях до 20 суток за каждым

Концентрации, мг/л	Поколения							
	F ₀		F ₁		F ₂		F ₃	
	M±m	td	M±m	td	M±m	td	M±m	Td
Контроль	95,0±9,8		100,0±0		100,0±0		100,0±0	
0,003	95,0±9,8	0	80,0±23,1	1,73	100,0±0	0	100,0±0	0
0,01	90,0±20,1	0,447	95,0±9,8	1,0	100,0±0	0	100,0±0	0
0,02	100,0±0	1,0	90,0±11,5	1,73	95,0±9,8	1,0	95,0±9,8	1,0
0,1	95,0±9,8	0	90,0±11,5	1,73	85,0±19,1	1,57	100,0±0	0

Таблица 2

Плодовитость *D. magna* четырех поколениях при действии метиленового синего (N - число молоди на 1 самку за 4 помета)

Конц-ия метиленового синего, мг/л	Число молоди	Поколения							
		F ₀		F ₁		F ₂		F ₃	
		M±m	t _d	M±m	t _d	M±m	t _d	M±m	t _d
Контроль	N	46±6,64		57,4±4,15		56,4±4,37		59,9±7,33	
0,003	N	40,6±6,8	1,13	54,4±6,31	0,8	58,3±6,8	0,48	54,3±3,86	1,35
	в % от контроля	88,3		94,8		103,4		90,7	
0,01	N	33,4±5,01*	3,04	42,9±5,61*	4,15	35,9±3,88*	7,01	49,2±1,19*	2,88
	в % от контроля	72,6		74,7		63,7		82,1	
0,02	N	28,6±2,39*	4,95	37,8±5,53*	5,66	35,1±3,29*	7,03	40,7±6,07*	3,67
	в % от контроля	62,2		65,9		62,2		67,9	
0,1	N	39,6±2,21	1,83	28,9±2,43	11,9	9,1±3,9*	16,2	12±8,27*	8,68
	в % от контроля	86,1		50,3		16,1		20	

* - отличие от контроля статистически достоверно

Таблица 3

Смертность *D. magna* за 24 часа при действии раствора метиленового синего (1,4 мг/л), сохранявшегося на свету или в темноте

Срок после разведения (сутки)	Число погибших живых рачков за 24 час. (% от иск.)	
	Раствор на свету	Раствор в темноте
0	50	50
3	90	53,3
5	100	76,7
10	100	56,7
20	100	96,7
30	100	96,7

Смертность *D. magna* за 24 часа при действии метиленового синего (1 мг/л) на свету и в темноте

Срок, час.	Число погибших рачков, (% от исх.)	
	На свету	В темноте
0	0	0
23,5	10	10
45,5	85	100
46,5	100	100

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wainwright M., D. A. Phoenix, M. Gaskell and B. Marshall. Photobactericidal activity of methylene blue derivatives against vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (1999) 44, 823-825
2. Головач Е. Н., Сычева Л. П., Беляева Н. Н., Кузнецова Н. А. Токсичность метиленового синего при разной степени деструкции // Гигиена и санитария. - 2007. - № 5. - С. 57-60.
3. Iwamoto Y, Mifuchi I, Yielding LW. Photodynamic mutagenic action of acridine compounds on yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat Res.* 1985 Dec;158(3):169-75
4. Drabkova M., Marsalek B., Admiraal W. Photodynamic therapy against cyanobacteria// *Environ Toxicol.* . 2007. 22 (1): 112-115.
5. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Geneva: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 1972, p. V24 201 (1980)
6. С. А. Куценко. Основы токсикологии, Санкт-Петербург, 2002 г.
7. Studnicka M., M., J. Niezgoda. Porownanie Toksycznosci Blekitu Metylenowego I Zieleni Malachitowej Dla Narybku Pstraga Teczowego. (Comparison of the Toxicity of Methylene Blue Prost. Med.Weter. 31(4):226-229 1975
8. Muller H.G. Sensitivity of *Daphnia magna* Straus against eight chemotherapeutic agents and two dyes. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1982 Jan;28(1):1-2.
9. Ahmad, G., and G. Srivastava. The Toxicity of Methylene Blue to Catfish, *Heteropneustes fossilis* and *Mystus (Mystus) vittatus*. *Sci.Environ.* 5(1-2):25-32 1983
10. Rifici, L.M., D.S. Cherry, J.L. Farris, and J. Cairns Jr. Acute and Subchronic Toxicity of Methylene Blue to Larval Fathead Minnows (*Pimephales promelas*): Implications for Aquatic Toxicity Testing. *Environ.Toxicol.Chem.* 15(8):1304-1308. 1996
11. Строганов Н.С. Методика определения токсичности водной среды //Методика биологических исследований по водной токсикологии.-М.: Наука, 1971, с.14-60
12. Лесников Л.А. Разработка нормативов допустимого содержания вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов//Вопросы методик в водной токсикологии. Сборник научных трудов ГосНИОРХ. вып.144.-Л., 1979. с.3 - 41.
13. Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО. 1998. 145 с Методические рекомендации..., 1991).

Специфическая фармакологическая активность и общетоксическое действие метаксалона

Хохлова О.Н.^{1,3}, Ржевский Д.И.¹, Кравченко И.Н.¹, Кравченко Н.Н.¹, Жармухамедова Т.Ю.¹,
Новикова Н.И.¹, Пономарева Т.И.¹,
Семущина С.Г.¹, Пахомова И.А.¹,
Садовникова Е.С.¹, Дьяченко И.А.^{1,3},
Берчатова А.А.^{1,3}, Туховская Е.А.¹, Лобанов А.В.¹, Остров В.Ф.^{1,3}, Никитин Л.В.², Хайменов А.Я.²,
Мурашев А.Н.^{1,3}

¹Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Опишиной (ФИБХ), Пушкино;
²Представительство фирмы «Д-р Редди» с/Лаборатории Лтд., Москва;
³Пушкинский государственный университет, Пушкино.

Введение. Метаксалон (5-[3,5-диметилфенокси]метил]-1,3-оксазолидин-2, CAS № 1665-48-1) является миорелаксантом центрального действия. Препараты метаксалона, используемые для купирования болезненного мышечного спазма при заболеваниях опорно-двигательного аппарата [4, 8], в настоящее время не зарегистрированы на территории Российской Федерации. Учитывая широкое применение миорелаксантов в клинической практике, а также отсутствие опыта применения метаксалона на территории РФ необходимость оценки эффективности и безопасности данной молекулы представляется очевидной.

Целью данного исследования было изучение специфической фармакологической активности и общей токсичности субстанции метаксалона («Д-р Редди» с/Лаборатории Лтд., Индия) на грызунах.

Методика исследования. Исследования выполнялись на аутобранных крысах CD (Sprague-Dawley) и мышах CD-1. Животные были получены из НПЦ ФИБХ «Питомник лабораторных животных» и содержались в барьерных помещениях в стандартных условиях, рекомендуемых для содержания грызунов [7]. Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены биотической комиссией ФИБХ.

Метаксалон вводили животным зондом в желудок в виде суспензии в 0,5% водном растворе додецил-сульфата натрия в объеме 10 мл/кг. Животные контрольных групп получали растворитель в том же объеме.

Специфическую миорелаксирующую активность метаксалона изучали по способности самок мышей удерживаться на вращающемся стержне прибора «Rota-Rod» (Columbus Instruments, США) после однократного введения дозы 500 мг/кг (близкой к терапевтической) [6] с перерасчетом для мышей [11], и 1000 мг/кг. В каждой группе было по 12 животных. Скорость вращения стержня составляла 5 об/мин с последующим ускорением 0,6 об/мин.

Изучение острой токсичности метаксалона с определением класса токсичности, а также летальных (LD_{50} , LD_{50}) и максимальных толерантных доз (МТД) выполняли при однократном введении вещества самцам и самкам лабораторных мышей и крыс. Для определения класса токсичности использовали рекомендации руководства 420 OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [3]. Введение начинали со стартовой дозы 2000 мг/кг, выбор которой был основан на опубликованных данных по токсичности зарубежных аналогов [6]. В зависимости от токсических проявлений в предыдущей группе следующим группам животных вводилась большая или меньшая доза. Мышам были введены дозы 1750, 2000, 2250, 2500, 2750 и 3000 мг/кг, крысам – дозы 1000-3000 мг/кг также с градацией 250 мг. В каждой группе было по 3-5 животных. После введения за всеми животными проводилось наблюдение в течение 14 дней, затем проведена их эвтаназия и некропсия. Расчет LD_{50} и LD_{01} производили методом наименьших квадратов с использованием пробит-анализа [2]. За МТД принималась максимальная доза, при которой наблюдались выраженные признаки интоксикации организма нескольких подопытных животных и гибель не более 1 в группе.

Исследование субхронической токсичности было выполнено на самцах и самках крыс при ежедневном введении метаксалона в дозе 250 мг/кг, близкой к терапевтической дозе для человека с учетом перерасчета [1, 6], или 1000 мг/кг зондом в желудок в течение 28 дней с последующим 14-дневным периодом отмены введения. У подопытных животных оценивали прирост массы тела, потребление корма и внешние признаки интоксикации. По окончании сроков наблюдений животных подвергали эвтаназии в CO_2 камере и некропсии. Были изучены гематологические показатели (количество эритроцитов, количество лейкоцитов, уровень гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в эритроците), биохимические параметры сыворотки крови (щелочная фосфатаза (ЩФ), аспартатаминотрансфераза (AsAT), аланинаминотрансфераза (AlAT), креатинин, общий билирубин, холестерин, триглицериды, мочевина), сделан гистологический анализ органов и тканей.

Для всех количественных данных были подсчитаны средние арифметические значения и их стандартные ошибки ($m \pm SEM$). Нормальность распределения определялась методом Shapiro-Wilk. Для установления межгрупповых различий в показателе времени удержания на вращающемся стержне, прироста массы тела и потребления корма применяли многофакторный тест ANOVA; для межгруппового сравнения показателей гематологии, биохимии и массы органов – однофакторный ANOVA с тестом Newman-Keuls. Для установления достоверности отличия показателей от исходного значения внутри группы применялся тест ANOVA с последующим тестом Dunnett. Различия считали статистически значимыми при $P < 0.05$. Статистический анализ проводили с помощью программы «Statistica for Windows 7.0».

Результаты и обсуждение. В тесте «вращающийся стержень» была установлена дозозависимая миорелаксирующая активность метаксалона, проявляющаяся в уменьшении, по сравнению с контрольной группой, времени удержания подопытных мышей на стержне. Выявленные отличия регистрировались через 30 мин после введения метаксалона в дозе 500 мг/кг и во временном интервале 30-120 мин после введения дозы 1000 мг/кг (Рис. 1).

В исследовании острой токсичности после введения метаксалона в дозах, больших 1750 мг/кг, а у самок крыс - в дозах, больших 1250 мг/кг, у всех подопытных крыс и мышей наблюдалось снижение двигательной активности вплоть до потери равновесия и неспособности к передвижению, отсутствие реакции на внешние раздражители, затруднение дыхания. Длительность и степень выраженности отмеченных признаков интоксикации носили дозозависимый характер. Однако, учитывая, что тестируемый препарат является миорелаксантом центрального действия, наблюдаемые эффекты могут быть связаны с его основной фармакологической активностью. Клинические признаки наблюдались у животных обычно в течение первых 48 часов. У погибших в ходе исследования животных при вскрытии обнаруживались геморрагии в легких, следы кровоизлияний в области носа и глаз, переполнение желудка смесью корма и тестируемого вещества, вздутие и воспаление кишечника, поражение печени. По системе классификации, принятой OECD [5], метаксалон может быть отнесен к 4-му классу токсичности ($2000 > LD_{50} > 300$ мг/кг) для крыс и 5 классу токсичности ($LD_{50} > 2000$ мг/кг) для мышей. Рассчитанные значения показателей LD_{50} , LD_{01} и МТД представлены в таблице 1.

В условиях субхронического эксперимента клинические признаки интоксикации организма подопытных животных (вялость, снижение тонуса скелетной мускулатуры, сгорбленная поза, сниженная реакция на внешние раздражители) проявлялись в группах, получавших максимальную тестируемую дозу метаксалона – 1000 мг/кг; выявленные признаки интоксикации наблюдались в основном у самок подопытных животных и носили обратимый характер. Одна самка из группы, получавшей метаксалон в дозе 1000 мг/кг, погибла на 28-й день введения при выраженных признаках интоксикации организма и истощении. Кроме того, начиная с седьмого дня исследования, в этой группе выявлено достоверное уменьшение, по сравнению с контролем, показателя прироста массы тела (рис. 2б), сопровождавшееся снижением показателя потребления корма на 7-й и 21-й дни введения (рис. 2г). Уменьшение показателя потребления корма наблюдалось и в группе самок, получавших метаксалон в дозе 250 мг/кг на 21-й день введения. Значения прироста массы тела и потребления корма в группах самок, получавших метаксалон, были сходны с аналогичными показателями в контрольной группе, не зависимо от величины тестируемой дозы (рис. 2а, в).

Статистически значимых отличий в значениях показателей гематологии между группами, получавшими метаксалон, и контрольной группой, выявлено не было (данные не представлены). Изме-

нения биохимических параметров сыворотки крови выражались в значимом, по сравнению с контрольной группой, увеличении уровня холестерина у самок после введения 250 мг/кг и у животных обоего пола после введения 1000 мг/кг, а также увеличении уровня общего билирубина в группе самок, получавших 1000 мг/кг (табл. 2). После окончания периода отмены введения значения измененных биохимических параметров в группах, получавших метаксалон, нормализовались и не отличались от аналогичных значений в контрольной группе.

При некропсии тел самок и самок подопытных животных, подвергнутых эвтаназии после окончания курса введения метаксалона, выявлялись случаи переполнения желудка и кишечника, связанные, вероятно, с атонией пищеварительного тракта; увеличения массы печени. Проведенный гистологический анализ (Ув. 8x40) обнаружил гипертрофию и гиперплазию гепатоцитов, а также нейтрофильную инфильтрацию и очаговый некроз слизистой оболочки дна желудка (табл. 3). Выявленные изменения носили дозозависимый характер и были обратимы.

Выводы

Таким образом, в рамках проведенного исследования установлена дозозависимая миорелаксирующая активность метаксалона («Д-р Редди» с/Лаборатории Лтд., Индия) в тесте «вращающийся стержень» при введении в желудок мышам. По результатам исследования острой токсичности метаксалон может быть отнесен к 4 классу токсичности ($2000 > LD_{50} > 300$ мг/кг) для крыс и 5 классу токсичности ($LD_{50} > 2000$ мг/кг) для мышей. При 28-ми дневном введении крысам клинические признаки интоксикации наблюдались, в основном, у самок, получавших метаксалон в дозе, превышающей эквивалентную максимальную суточную дозу для человека в 4 раза; установлено, что печень и желудок являются основными органами-мишенями токсического действия тестируемого вещества. Многократное введение метаксалона крысам в дозе 250 мг/кг, эквивалентной максимальной суточной дозе для человека, является безопасным, не вызывает смертности животных и выраженных клинических признаков интоксикации организма; изменения, наблюдаемые в группах подопытных животных, получавших метаксалон в дозе 1000 мг/кг, носят обратимый характер.

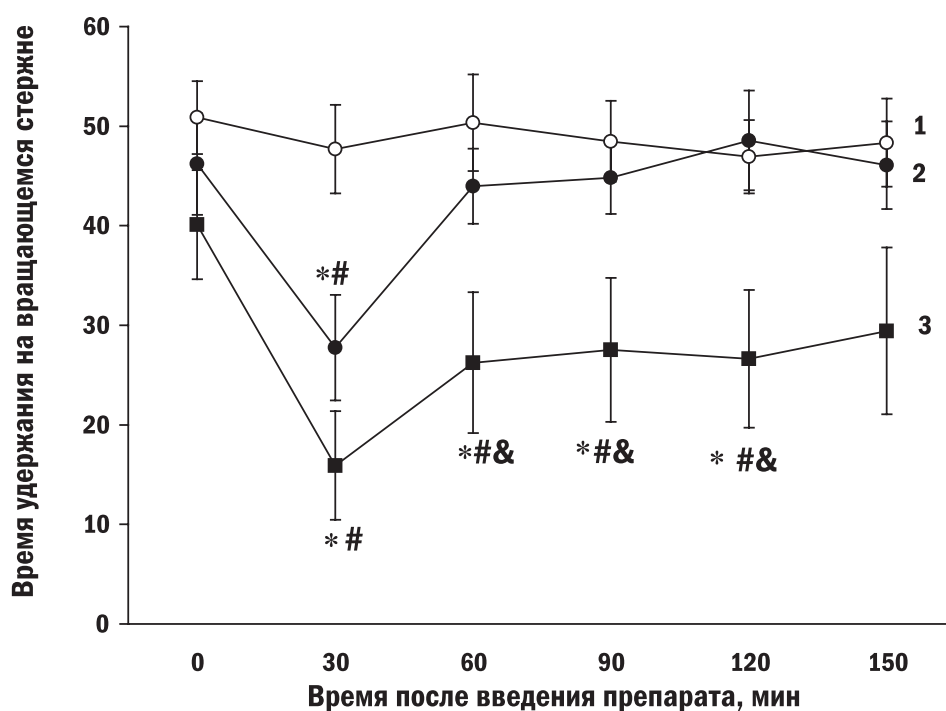


Рис.1. Способность к удержанию на вращающемся стержне мышей после введения растворителя (1, n=12, m±SEM), метаксалона в дозе 500 мг/кг (2, n=12, m±SEM) или метаксалона в дозе 1000 мг/кг (3, n=12, m±SEM). *P<0.05 относительно нулевой точки (тест ANOVA с последующим тестом Dunnett), #P<0.05 относительно растворителя, &P<0.05 относительно 500 мг/кг (многофакторный тест ANOVA).

Таблица 1

Значения показателей острой токсичности метаксалона

Показатель	Мыши CD-1		Крысы CD	
	самцы	самки	самцы	самки
ЛД ₁₆ (внутрижелудочно), мг/кг	1870	1818	2192	1217
ЛД ₅₀ (внутрижелудочно), мг/кг	2783	2948	2806	1847
МТД (внутрижелудочно), мг/кг	2500	2750	2250	1250

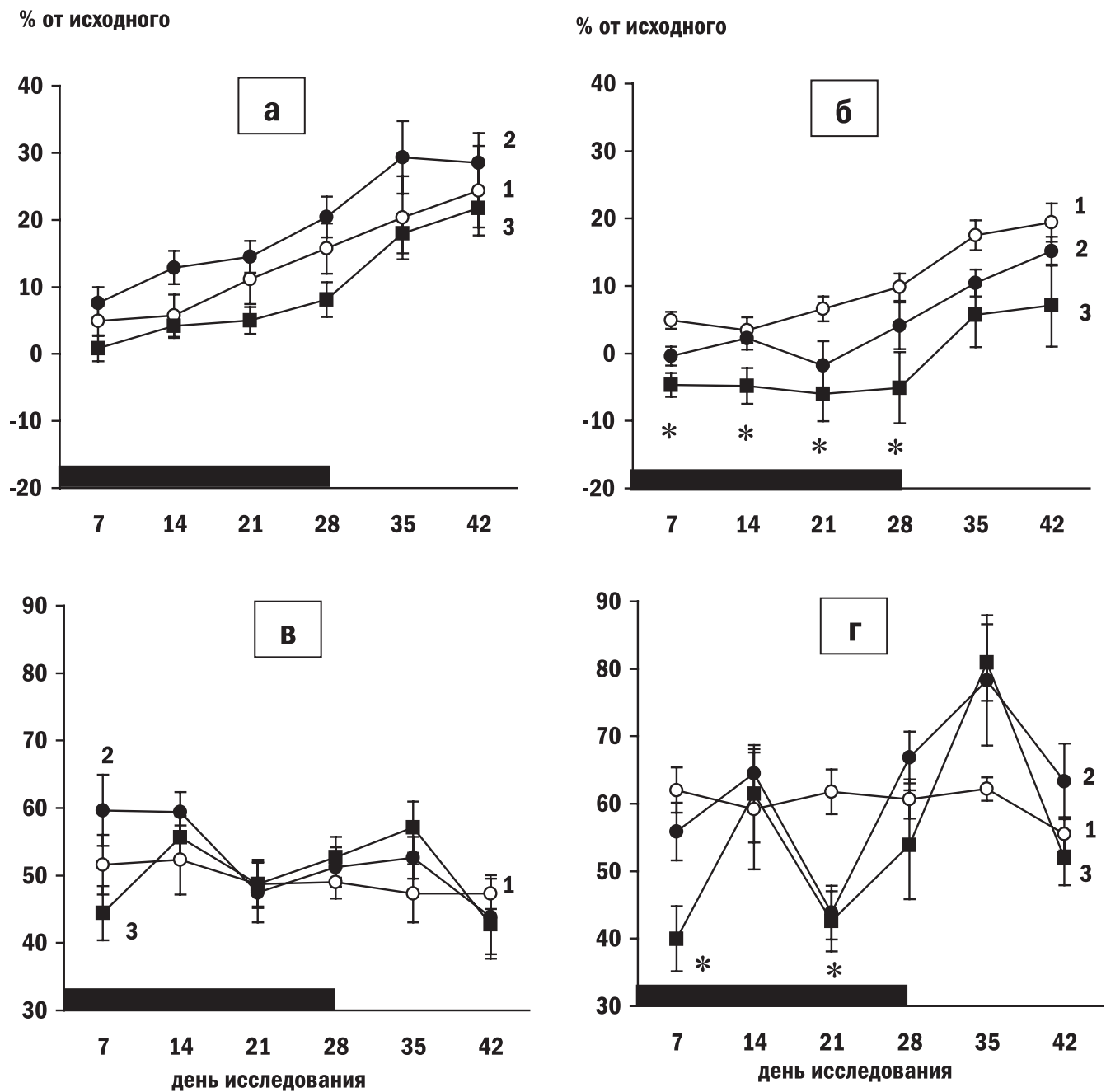


Рис.2. Прирост массы тела у самцов (а) и самок (б) и изменение потребления корма у самцов (в) и самок (г) крыс CD при введении растворителя (1), метаксалона в дозе 250 мг/кг (2) или метаксалона в дозе 1000 мг/кг (3). *P<0.05 относительно растворителя (многочисленный тест ANOVA). Данные представлены как \bar{x} -SEM. Черным прямоугольником отмечен период введения.

Средние выборочные значения показателей биохимии сыворотки крови крыс CD

Название тестируемого параметра	после окончания курса введения			после окончания периода отмены введения		
	0 мг/кг	250 мг/кг	1000 мг/кг	0 мг/кг	250 мг/кг	1000 мг/кг
	Самцы (m±SEM)					
	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
АсАТ, мккат/л	0.44 ± 0.03	0.34 ± 0.04	0.34 ± 0.02	0.48 ± 0.08	0.41 ± 0.04	0.39 ± 0.03
АлАТ, мккат/л	0.22 ± 0.05	0.24 ± 0.05	0.28 ± 0.04	0.29 ± 0.08	0.19 ± 0.03	0.25 ± 0.08
ЩФ, мккат/л	2.14 ± 0.21	2.20 ± 0.24	2.47 ± 0.21	2.45 ± 0.16	2.28 ± 0.19	2.46 ± 0.12
Креатинин, мкмоль/л	38.27 ± 3.03	38.27 ± 3.03	43.05 ± 0.00	45.45 ± 2.39	37.31 ± 3.52	33.49 ± 8.00
Мочевина, ммоль/л	7.3 ± 0.9	5.3 ± 0.2	6.3 ± 0.8	5.5 ± 0.8	5.7 ± 0.4	5.4 ± 0.3
Холестерин, ммоль/л	0.98 ± 0.09	1.23 ± 0.17	2.01 ± 0.15*	1.11 ± 0.05	1.20 ± 0.09	1.11 ± 0.13 #
Триглицериды, ммоль/л	0.47 ± 0.05	0.35 ± 0.06	0.35 ± 0.03	0.43 ± 0.05	0.40 ± 0.03	0.31 ± 0.03
Билирубин, мкмоль/л	1.8 ± 0.4	1.1 ± 0.4	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.2	1.6 ± 0.3	1.4 ± 0.3
	Самки (m±SEM)					
	(n=6)	(n=6)	(n=5)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
АсАТ, мккат/л	0.42 ± 0.06	0.43 ± 0.05	0.47 ± 0.04	0.38 ± 0.06	0.38 ± 0.03	0.34 ± 0.04
АлАТ, мккат/л	0.19 ± 0.02	0.23 ± 0.05	0.27 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.14 ± 0.02	0.16 ± 0.02
ЩФ, мккат/л	1.36 ± 0.17	1.42 ± 0.15	1.49 ± 0.26	1.49 ± 0.07	1.35 ± 0.15	1.41 ± 0.21
Креатинин, мкмоль/л	47.84 ± 4.78	45.45 ± 4.41	45.92 ± 5.37	43.05 ± 0.00	35.88 ± 3.21	33.49 ± 7.10
Мочевина, ммоль/л	5.8 ± 0.4	5.9 ± 0.7	6.9 ± 0.5	6.6 ± 0.6	5.0 ± 0.3	5.6 ± 0.3
Холестерин, ммоль/л	1.10 ± 0.11	1.45 ± 0.05*	1.91 ± 0.11*&	1.19 ± 0.07	1.21 ± 0.08	1.45 ± 0.08#
Триглицериды, ммоль/л	0.40 ± 0.04	0.38 ± 0.04	0.48 ± 0.06	0.41 ± 0.03	0.39 ± 0.04	0.33 ± 0.02
Билирубин, мкмоль/л	1.7 ± 0.3	1.0 ± 0.4	45.3 ± 28.4*&	1.9 ± 0.2	1.9 ± 0.2	1.6 ± 0.5#

Примечание. * P<0.05 относительно 0 мг/кг; & P<0.05 относительно дозы 250 мг/кг; # P<0.05 относительно соответствующей дозы после 28 дней введения (ANOVA с последующим тестом Newman-Keuls).

Таблица 3

Патоморфологические изменения у подопытных крыс CD

Название тестируемого параметра	после окончания курса введения			после окончания периода отмены введения		
	0 мг/кг	250 мг/кг	1000 мг/кг	0 мг/кг	250 мг/кг	1000 мг/кг
	Самцы (m±SEM)					
	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Масса печени, % от массы тела	3.27±0.09	4.22±0.16*	5.45±0.19*&	3.09±0.08	3.12±0.12#	3.35±0.11#
Признаки атонии желудка ^a	0	0	2	0	0	0
Гипертрофия и гиперплазия гепатоцитов ^a	0	4	6	0	0	0
Нейтрофильная инфильтрация слизистой оболочки желудка ^a	0	0	1	0	0	0
	Самки (m±SEM)					
	(n=6)	(n=6)	(n=5)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Масса печени, % от массы тела	3.22±0.08	3.91±0.16*	5.32±0.21*&	3.29±0.14	3.10±0.04#	3.36±0.05#
Признаки атонии желудка ^a	0	0	4	0	0	0
Гипертрофия и гиперплазия гепатоцитов ^a	0	3	5	0	0	0
Очаговый некроз слизистой оболочки желудка ^a	0	0	3	0	0	0

Примечание. *P<0.05 относительно 0 мг/кг, &P<0.05 относительно дозы 250 мг/кг, #P<0.05 относительно соответствующей дозы после 28 дней введения (ANOVA с последующим тестом Newman-Keuls), количество животных с изменением.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. М.: МДВ, 2008.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. М.: Медицина, 2005.
3. Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure. OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Guideline 420. Paris: OECD, 2001.
4. Chou R., Peterson K., Helfand M. // J. Pain Symptom Manage. 2004. - Vol. 28, - N 2. - P. 140-175.
5. Harmonized Integrated Classification System for Human Health and Environmental Hazards of Chemical Substances and Mixtures. OECD Series on Testing and Assessment Number 33. ENV/JM/MONO(2001)6. Paris: OECD, 2001.
6. Skelaxin (Metaxalone) Drug Description. Web site <http://www.rxlist.com/skelaxin-drug.htm> Assessed October 15, 2010.
7. The Guide for Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996.
8. Toth P.P., Urtis J. // Clin. Ther. - 2004.- N 9. - P. 1355-1367.

НОВЫЕ ГИГИЕНИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ

Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г.Г. Онищенко постановлением от 12.07.2011 г. №98 утвердил и ввел в действие с 1 октября 2011 года гигиенические нормативы ГН 2.1.6.2897-11 «Дополнение № 9 к ГН 2.1.6.1338-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест» (Зарегистрированы Министерством юстиции Российской Федерации 11.06.2003, регистрационный № 4679, с изменениями, внесенными регистрационными номерами 7224, 5187, 7225, 8117, 11260, 12223, 13357, 13934, 17280)

Дополнение № 9 к ГН 2.1.6.1338-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест»

Гигиенические нормативы
ГН 2.1.6. 2897-11

Внести следующие дополнения в ГН 2.1.6.1338-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест»:

1. Дополнить главу II ГН 2.1.6.1338-03 следующей позицией:

№ п/п	Наименование вещества	Номер CAS	Формула	Величина ПДК (мг/м ³)		Лимитирующий показатель вредности	Класс опасности
				максимальная разовая	среднесуточная		
1	2	3	4	5	6	7	8
	Смолистые вещества (возгоны пека) в составе электролизной пыли выбросов производства алюминия	-	-	0,1 [*]	0,03 ^{2**}	рез.	1

2. Для вышеуказанных веществ установить следующую предельно допустимую среднегодовую концентрацию:
- смолистые вещества в составе электролизной пыли выбросов производства алюминия – 0,01 мг/м³.

* 98 процентиль

** 95 процентиль

РЕЕСТР СВИДЕТЕЛЬСТВ О ГОСУДАРСТВЕННОЙ РЕГИСТРАЦИИ

(единая форма Таможенного союза, российская часть)

№ п/п	Наименование продукта	Производитель	Получатель	Номер свидетельства о государственной регистрации, дата регистрации	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS/EC	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер РПОХБВ
18.	Тиамин гидрохлорид	«NORTHEAST PHARM. TRADING COMPANY LTD.», No. 51 the Youth street, Shenhe District, Shenyang, P.R. China. Post Code: 110014 (Китайская Народная Республика)	Представительство компании «Хебей Хэуа Импорт энд Экспорт Ко., Лтд.» (Китай), 105077, г. Москва, Измайловский бульвар, д.58 (Российская Федерация)	RU.77.99.21.008. E.001169.09.10 от 21.09.2010	3-[(4-Амино-2-метил-5-пиримидинил)метил]-5-(2-гидроксэтил)-4-метилхлорид-тиазолий гидрохлорид	67-03-8/ 200-641-8	тиаминовый хлорид гидрохлорид; Витамин В1 гидрохлорид; Витамин (sub) гидрохлорид	серия ВТ № 003210
19.	1,3,5-Трихлор-1,3,5-триазин-2,4,6(1H,3H,5H)-трион	Хэдзэ Инэн Кемикал Ко Лтд., 274600, Рэд Бэст Таун Хай-Тэк индустриал девелопмент зон 001, Джуангчен Каунтиб Шандог Провинс (Китайская Народная Республика)	ООО «Альбион Групп», 664007, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Ф. Энгельса, д. 8, оф. 219 (Российская Федерация)	RU.77.99.21.008. E.000601.08.10 от 26.08.2010	1,3,5-Трихлор-1,3,5-триазин-2,4,6(1H,3H,5H)-трион	87-90-1/ 201-782-8	1,3,5-Трихлор-S-триазин-2,4,6(1H,3H,5H) трион; N,N',N''-трихлор изоциануровая кислота; 1,3,5-трихлор-изоциануровая кислота; трихлоризоцианурат	серия ВТ № 003183
20.	Ферроцен	«HEBEI HAIHUA IMPORT & EXPORT CO. LTD», 50, Zhonghua north Street, Shijiazhuang, 050051, P.R. China (Китайская Народная Республика)	Представительство компании «Хебей Хэуа Импорт энд Экспорт Ко., Лтд.» (Китай), 105077, г. Москва, Измайловский бульвар, д.58 (Российская Федерация)	RU.77.99.21.008. E.001168.09.10 от 21.09.2010	Дидипента-2,4-диен-1-ил железо	102-54-5/ 203-039-3	Бисциклопентадиен-ил железо; ди-2,4-циклопентадиен-1-ил железо; дидипентадиен-ил железо; бис(пидипентадиен-ил) железо	серия ВТ № 001341
21.	N,N'-1,2-Этандинилбис [N-(карбоксиметил)глицинат] тетраатрия	«PROTELOR», 6, rue Barbes F - 92305 LEVALLOIS, PARIS (Франция)	ООО «ОГОНЬ И ВОДА - Нижний Новгород», 603032, г. Н.Новгород, ул.Баумана, 177 (Российская Федерация)	RU.77.99.26.008. E.001880.10.10 от 13.10.2010	N,N'-1,2-Этандинилбис [N-(карбоксиметил)глицинат] тетраатрия	64-02-8/ 200-573-9	Этилендиаминтетраацетат тетраатрия, этилендиаминтетрауксусной кислоты тетраатриевая соль; N,N'-1,2-этандинилбис [N-(карбоксиметил)глицинат] тетраатриевая соль; ЭДТА тетраатриевая соль; VERSENE® 100E Chelating Agent (водный раствор)	серия ВТ № 002773
22.	N,N'-1,2-Этандинилбисоктандеканамид	ISA Transworld (M) Sdn Bhd. (Company no: 863841-W) No. 7/1, Jalan Anggerik Vanilla AB 31/AB, Kota Kemuning, 40460 Shah Alam, Selangor D.E. Malaysia (Малайзия)	ЗАО «Предприятие Химэкс», 301766, Тульская область, г. Донской, микрорайон Центральный, улица Кирпичная, д. 1 (Российская Федерация)	RU.77.99.26.008. E.001166.09.10 от 21.09.2010	N,N'-1,2-Этандинилбисоктандеканамид	110-30-5/ 203-755-6	Этиленбисстеарамид; 1,2-бис(октанамид)этан; N,N'-1,2-этиленбисоктанамид; Ethylene bis stearamide REFOVER S517-17	серия ВТ № 003182
23.	2-Этилгексановая кислота	ЗАО «Сибур-Химпром», 614055, Пермская обл., г. Пермь, ул. Промышленная, 98 (Российская Федерация)	ЗАО «Сибур-Химпром», 614055, Пермская обл., г. Пермь, ул. Промышленная, 98 (Российская Федерация)	RU.77.99.26.008. E.001862.10.10 от 13.10.2010	2-Этилгексановая кислота	149-57-5/ 205-743-6	Бутилэтилуксусная кислота; этилкапроновая кислота; 2-бутилбутановая кислота; альфа-этилгексановая кислота; 3-гептанкарбоновая кислота	серия ВТ № 002946
24.	2-Этилгексановая кислота	«Perstorp Oxo AB», SE-444 84 Stenungsund, Sweden (Швеция)	ООО «ЕТС-Логистика» Россия, 196210, г. Санкт-Петербург, ул. Штурманская, д. 11 (Российская Федерация)	RU.77.99.26.008. E.001944.10.10 от 15.10.2010	2-Этилгексановая кислота	149-57-5/ 205-743-6	Бутилэтилуксусная кислота; этилкапроновая кислота; 2-бутилбутановая кислота; альфа-этилгексановая кислота; 3-гептанкарбоновая кислота	серия ВТ № 002946
25.	2-Этил-3,5-диметилпиразин	«Frutarom Ltd», P.O.Box 10067 Haifa, 26110 ISRAEL (Израиль)	ООО «Комбинат химико-пищевой ароматики», 195027 г.Санкт-Петербург, ул. Партизанская, д.11 (Российская Федерация)	RU.77.99.26.008. E.001614.10.10 от 05.10.2010	2-Этил-3,5-диметилпиразин	13925-07-0/ 237-694-1	3-Этил-2,6-диметилпиразин	серия ВТ № 003224
26.	2-Этил-3,6-диметилпиразин	«Frutarom Ltd», P.O.Box 10067 Haifa, 26110 ISRAEL (Израиль)	ООО «Комбинат химико-пищевой ароматики», 195027 г.Санкт-Петербург, ул. Партизанская, д.11 (Российская Федерация)	RU.77.99.26.008. E.001615.10.10 от 05.10.2010	2-Этил-3,6-диметилпиразин	13360-65-1/ 236-417-1	3-Этил-2,5-диметилпиразин	серия ВТ № 003225
27.	2-Этокси-1-метилэтилацетат	Kiian S.p.A., Via De Gasperi, 1 22070 Luisago (CO) (Италия)	ЗАО «Корпорация «Глория Джинс», 344029, Ростов-на-Дону, Сельмаш, 20/51 (Российская Федерация)	RU.77.99.21.008. E.000586.08.10 от 26.08.2010	2-Этокси-1-метилэтилацетат	(CAS: 112-07-2) (EC: 203-933-3)	Моноэтиловый эфир пропиленгликоля ацетат, этоксипропилацетат,	серия ВТ № 003167

№ п/п	Наименование продукта	Производитель	Получатель	Номер свидетельства о государственной регистрации, дата регистрации	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS/ЕС	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер РГОХБВ
28.	BRIQUEST® ADPA- 20AS	«Rhodia UK Limited», P.O. Box 80, Trinity Street, Oldbury, West Midlands, B69 4LN, UK (<i>Великобритания</i>)	ООО «Проктер энд Гэмбл - Новомосковск», 301650, г. Новомосковск, Тульской обл., Комсомольское шоссе, 64 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.26.008. E.001853.10.10 от 13.10.2010	(1-Гидроксиэтилиден)бисфосфонат натрия	29329-71-3/ 249-559-4	Этанол-1,1-дифосфонат натрия; этан-1-гидроксид-1,1-дифосфононовой кислоты натриевая соль; (1-гидроксиэтилиден)дифосфононовой кислоты натриевая соль	серия ВТ № 003206
29.	DEHA (N,N-Diethylhydroxylamine), 85%	«Chevron Phillips Chemical Company LP Specialty Chemicals», Specialty, 10001 Six Pines Drive, The Woodlands TX 77380. Chevron Phillips Chemical International N.V., Brusselsesteenweg 355, B-3090 Overijse, Belgium (<i>Бельгия</i>)	ОАО «СНХЗ», 453110, Башкортостан, Стерлитамак, ул. Техническая, 10 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.26.008. E.001616.10.10 от 05.10.2010	N-Этил-N-гидроксиэтанамин	3710-84-7/ 223-055-4	N-гидроксидиэтиламин; N,N-Диэтил- гидроксиламин, DEHA 85% (водный раствор вещества)	серия ВТ № 001880
30.	DESMODUR W, DESMODUR W/1	«Bayer MaterialScience AG» 51368 Leverkusen (<i>Германия</i>)	ЗАО «БАЙЕР», 123022, г. Москва, Б.Трехгорный пер., д.1, стр. 1 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.26.008. E.001988.10.10 от 18.10.2010	1,1'-Метиленбис-(4-изоцианат-циклогексан)	5124-30-1/ 225-863-2	4,4'-Диизоцианатдициклогексилметан; дициклогексилметан-4,4'-диизоцианат; метиленди-4,1-циклогексильный эфир изоциановой кислоты; дициклогексилметан-4,4'-диизоцианат	серия ВТ № 003236
31.	DESMODUR H	«Bayer MaterialScience AG» 51368 Leverkusen (<i>Германия</i>)	ЗАО «БАЙЕР», 123022, г. Москва, Б.Трехгорный пер., д.1, стр. 1 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.26.008. E.001987.10.10 от 18.10.2010	1,6-Диизоцианат-гексан	822-06-0/ 212-485-8	1,6-Гексаметилендиизоцианат, 1,6-гексилдиизоцианат, 1,6-гексан-диолдиизоцианат, гексан-1,6-диизоцианат, гексаметиленовый эфир изоциановой кислоты, диэфир с 1,6-гександиолом изоциановой кислоты; гексаметилендиизоцианат	серия ВТ № 003241
32.	DESMODUR 2460M, DESMODUR LS 2424	«Bayer MaterialScience AG» 51368 Leverkusen (<i>Германия</i>)	ЗАО «БАЙЕР», 123022, г. Москва, Б.Трехгорный пер., д.1, стр. 1 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.26.008. E.001986.10.10 от 18.10.2010	1,1'-Метиленбис-(изоцианатбензол)	27344-41-8/ 248-421-0	Метилендифенилдиизоцианат, метилен-дифениловый эфир изоциановой кислоты, 4,4'-метилендиизоцианат; 4,4'-дифенилметандиизоцианат; полиизоцианат	серия ВТ № 002672
33.	Desmophen NH 1520	«Bayer MaterialScience AG»/ «Байер МатериалСайенс АГ», 51368 Leverkusen (51368 Leverkusен) (<i>Германия</i>)	ЗАО «Байер», 123022, Москва, Б. Трехгорный пер.1, стр.1 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.21.008. E.001357.09.10 от 27.09.2010	1,1',4,4'-Тетраэтил-N,N'-[метиленбис(2-метилциклогексан-4,1-диил)] бис-DL-аспаргат	136210-32-7/412-060-9	Бис[4-[1,2-бис(этоксикарбонил)-этиламино]-3-метициклогексил]метан; тетраэтиловый эфир N,N'-[метилен-бис(2-метициклогексан-4,1-диил)]бис-DL-аспаргиновой кислоты	серия ВТ № 003229
34.	Desmophen NH 1420	«Bayer MaterialScience AG»/ «Байер МатериалСайенс АГ», 51368 Leverkusen (51368 Leverkusен) (<i>Германия</i>)	ЗАО «Байер», 123022, Москва, Б. Трехгорный пер.1, стр.1 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.21.008. E.001356.09.10 от 27.09.2010	1,1',4,4'-Тетраэтил-N,N'-(метилендициклогексан-4,1-диил) бис-DL-аспаргат	136210-30-5/429-270-1	Бис[4-[1,2-бис(этоксикарбонил)-этиламино]-циклогексил] метан; тетраэтиловый эфир N,N'-(метилендициклогексан-4,1-диил)бис-DL-аспаргиновой кислоты	серия ВТ № 003230
35.	Desmophen NH 1220	«Bayer MaterialScience AG» 51368 Leverkusen (<i>Германия</i>)	ЗАО «БАЙЕР», 123022, г. Москва, Б.Трехгорный пер., д.1, стр. 1 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.26.008. E.001989.10.10 от 18.10.2010	1,1',4,4'-Тетраэтил-N,N'-(2-метиллент-1,5-диил) бисаспаргат	168253-59-6/ 433-260-2	1,5-Бис[1,2-бис(этоксикарбонил)-этиламино]-2- метиллентан; тетраэтиловый эфир N,N'-(2-метиллент-1,5-диил)бисаспаргиновой кислоты	серия ВТ № 003250
36.	Levagard TEP (Flame Retardant 94600)	«BASF Polyurethanes GmbH», Postfach 1140 · 49440 Lemförde, Germany, Германия (заводы в странах изготовителях: Бельгия, Нидерланды, Испания, Франция, Италия, Великобритания, Польша, Швеция, Словакия, Южная Африка, Турция, Венгрия, США, Канада, Бразилия, КНР, Япония, Корея, Швейцария) (<i>ФРГ</i>)	ООО «Эластокам», Совместное предприятие ОАО «Нижнекамскнефтехим» и БАСФ Полиуретанс ГмбХ, 423574, г. Нижнекамск-4, Промзона, а/я 52 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.26.008. E.001946.10.10 от 15.10.2010	Триэтилфосфат	78-40-0/ 201-114-5	Этилфосфат; триэтиловый эфир фосфорной кислоты; этиловый эфир фосфорной кислоты	серия ВТ № 001856
37.	Microcare Quat CTC 25; Microcare Quat CTC 30	«THOR ESPECIALIDADES S. A.», Poligono Industrial EL PLA Avenida de la Industria, 1 08297 Castellgalí Barcelona - Espana (<i>Испания</i>)	ООО «Ревада», 117593, г.Москва, ул. Айвазовского, д.1 (<i>Российская Федерация</i>)	RU.77.99.26.008. E.001602.10.10 от 05.10.2010	N,N,N-Триметил-1-гексадеканаминийхлорид	112-02-7/ 203-928-6	Цетилтриметиламмоний хлорид; триметилцетиламмоний хлорид; цетилтриметиламмоний хлорид (водный раствор); Cethyl trimethyl ammonium chloride	серия ВТ № 003196