

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review

Научно-практический журнал

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



№ 1 (112), 2012

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Катцельсон Б.А., Привалова Л.И., Киреева Е.П., Ерёмченко О.С., Сутункова М.П., Казмер Ю.И., Валамина И.Е., Минигалиева И.А., Сутыркина Е.Ю., Бухарова Г.Ш. Комбинированная субхроническая фтор-свинцовая интоксикация и ослабление её развития с помощью комплекса биопротекторов.....	2
Смирнов А.М., Меличенко П.И., Прохоров Н.И., Смирнов С.В. Изучение профессиональных токсикантов вредных производств и информативность метода эпидемиологического анализа данных в гигиене труда.....	8
Айдинов Г. Т., Свечников В.С., Алексеев С. П., Гуливец А.Н. Значение гигиенического мониторинга алкогольной ситуации в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения на региональном уровне (на примере Ростовской области).....	12
Курпынова А.Ф., Чепур С.В., Быков В.Н., Юдин М.А., Никифоров А.С. Особенности детоксикационных свойств серосодержащих веществ при тяжелом отравлении крыс этанолом.....	16
Огудов А.С., Любарский М.С., Сенцов В.Г. Синдром эндогенной интоксикации в патогенезе состояния отмены опиоидов в условиях применения лимфотропных технологий.....	20
Матвеевич В.А., Лукнинов Е.А., Рожков П.Г., Белова М.В. Сочетанное применение энтеросорбции и кишечного лаважа при острых пероральных отравлениях психофармакологическими средствами.....	26
Корсаков А.В., Трошин В.П., Микалёв В.П., Жилин А.В., Жилина О.В., Воробьева Д.А., Короткова, Н.С. Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений в букальном эпителии детей на экологически неблагоприятных территориях Брянской области.....	29
Малов А.М., Сибiryakov В.К., Семенов Е.В., Колбасова Е.Н. Депонирование ртути в крови крысы и человека.....	34
Дьяченко И.А., Мурашев А.Н., Якименко, З.А., Баландин С.В., Овчинникова Т.В. Сравнительное изучение токсического действия пептидных антибиотиков.....	40
Саркисян М.С., Лазарян Д.С. Химико-токсикологическое исследование метамизола в моче.....	44
<input type="checkbox"/> Съезды, конференции, совещания.....	49
<input type="checkbox"/> Юбилейные даты.....	55

**БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА
ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ
И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**

<input type="checkbox"/> Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ.....	57
<input type="checkbox"/> Новые гигиенические нормативы.....	64
<input type="checkbox"/> Реестр свидетельств о государственной регистрации.....	65

Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kireyeva Ye.P., Yeryomenko O.S., Sutunkova M.P., Kazmer Yu.I., Valamina I.Ye., Minigalyeva I.A., Sutyrykina Ye.Yu., Bukharova G.Sh. Joint sub-chronic fluoro-lead intoxication and weakening of its development by means of a bio protectors complex.....	2
Spiridonov A.M., Melichenko P.I., Prokhorov N.I., Smlmov S.V. Study of occupational toxicants in the industrial production and the information value of a method based on epidemiology-analyzed data in occupational hygiene.....	8
Aidnov G.T., Svechnikov V.S., Alekseyenko S.P., Gulvets A.N. Importance of hygienic monitoring of the alcoholic situation to ensure sanitary and epidemiological well-being of the population on the regional level (on the example of the Rostov region).....	12
Kurpyonova A.F., Chepur S.V., Bykov V.N., Yudin M.A., Nikiforov A.S. Particularities of detoxification properties of sulfur-containing substances at a heavy poisoning of rats by ethanol.....	16
Ogudov A.S., Lyubarskiy M.S., Sentsov V.G. Endogenous intoxication syndrome in pathogenesis of the opioid withdrawal status under conditions of using lymphotropic technics.....	20
Matkevich V.A., Luzhnikov Ye.A., Rozhkov P.G., Belova M.V. Joint use of enterosorption and intestine lavage at acute peroral poisonings by psychopharmacological means.....	26
Korsakov A.V., Troshin V.P., Mikhaylov V.P., Zhilin A.V., Zhilina O.V., Vorobyeva D.A., Korotkova N.S. Comparative evaluation of the cytogenetic disorders incidence in the buccal epithelium in children on ecologically adverse territories of the Bryansk region.....	29
Malov A.M., Sibiryakov V.K., Semyonov Ye.V., Kolbasova Ye.N. Storing of mercury in blood of rats and humans.....	34
Dyachenko I.A., Murashev A.N., Yakimenko Z.A., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V. Comparative investigation of general toxic action of peptidic antibiotics.....	40
Sarkisyan M.S., Lazaryan D.S. Chemical and toxicological investigation on Metamizole in urine.....	44
<input type="checkbox"/> Congresses, conferences, meetings.....	49
<input type="checkbox"/> Anniversaries.....	55

**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.....	57
<input type="checkbox"/> New hygienic standarts.....	64
<input type="checkbox"/> Register of state registration certificates.....	65

Комбинированная субхроническая фтор-свинцовая интоксикация и ослабление её развития с помощью комплекса биопротекторов

При субхронической внутрибрюшинной за-
травке крыс сублетальными дозами фтори-
да натрия и ацетата свинца показано, что
по ряду эффектов комбинированное токсическое
действие этих элементов является аддитивным
или супераддитивным. В частности, под влиянием
фтора усиливается неблагоприятное влияние свинца
на порфириновый обмен и вызываемое свинцом
увеличение числа ретикулоцитов в крови; только
в комбинации фтор и свинец вызывают значимое
снижение уровня тиреотропного гормона и т.д. На

Введение. Токсическое воздействие на население городов, в которых действуют предприятия цветной металлургии, как правило, является многокомпонентным. К числу токсических комбинаций, типичных для ряда таких городов Уральского региона, следует отнести сочетание соединений фтора (прежде всего, в связи с выбросами электролитического производства алюминия) и свинца (в связи с деятельностью предприятий первичной и вторичной металлургии свинца, меди и их сплавов, а также со стойким загрязнением среды этим металлом, накопленным за длительный период работы автотранспорта на этилированном бензине). Оба элемента характеризуются высокой хронической токсичностью, вовлекающей в патологический процесс поражение многих систем организма с нередко близкими точками приложения токсического действия [1, 5]. В частности, отметим связь токсикодинамики обоих элементов с кальциевым обменом и присущее им обоим токсическое действие на щитовидную железу.

Однако литературных данных по проблеме комбинированной токсичности свинца и фтора недостаточно. Она привлекла к себе внимание некоторых американских авторов в связи с давней дискуссией о пользе и рисках фторирования воды (как способа профилактики кариеса), поскольку во многих городах восточных штатов сохраняются участки водопроводной сети, выполненные из свинцовых труб. При определении содержания свинца в крови у свыше 280 000 детей в штате Массачусетс было установлено, что фторирование (фторсили-

Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И.,
Киреева Е.П., Ерёменко О.С., Сутункова М.П.,
Казмер Ю.И., Валамина И.Е., Минигалиева
И.А., Сутыркина Е.Ю., Бухарова Г.Ш.

ФГУН Екатеринбургский Медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих
промпредприятий Роспотребнадзора

фоне перорального приёма комплекса, включающего в свой состав биопротекторы, направленные на токсикодинамические и токсикокинетические механизмы интоксикации (пектин, глютаминат натрия, препараты «Компливит Актив» и «Компливит кальций Д₃»), отмечено ослабление ряда эффектов комбинированного вредного действия.

Ключевые слова: фтор, свинец, биопротекторы.

катом) повышает этот показатель и связанную с ним распространённость нейропсихических нарушений [7]. В эксперименте на крысах было показано, что при добавлении к питьевой воде свинца в комбинации с фтором повышается как концентрация металла в крови, так и накопление его в костях и зубах, в то время как на концентрации фтора в тех же тканях комбинация со свинцом не повлияла [9]. Обнаружена сниженная способность к обучению у крысят от самок, подвергавшихся комбинированному воздействию свинца и фтора, по сравнению с воздействием только свинца или только фтора [8]. У них же при действии указанной комбинации было наиболее выражено снижение содержания в мозгу (гипокампусе) глутамата, являющегося основным медиатором возбуждения в центральной нервной системе и играющего важную роль в процессе обучения.

Целью нашего исследования было, с одной стороны, изучить характер комбинированной фтор-свинцовой интоксикации по достаточно широкому спектру показателей, а с другой – попытаться затормозить её развитие с помощью комплекса биопротекторов, подобранного в соответствии с общими принципами «биологической профилактики» - того научного направления, которое нашим коллективом разрабатывается и внедряется в практику на протяжении длительного периода [4, 6].

Материал и методы исследования. Эксперимент проведен на 120 аутбредных белых крысах-самках с исходной массой тела 180-190 грамм в соответствии с «Правилами лабораторной прак-

тики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н). В качестве токсикантов были использованы фторид натрия и ацетат свинца В состав биопротективного комплекса (БПК) были включены глютаминат натрия, пектин яблочный, поливитаминно-полиминеральный препарат «Компливит актив», дополнительный источник кальция – препарат «Компливит кальций Д₃».

Модель субхронической интоксикации создавали путем внутрибрюшинного введения исследуемых солей крысам 3 раза в неделю в течение 6 недель (всего 18 введений). Дозировка солей соответствовала 0,025 ЛД₅₀ и составила для фторида натрия 1,45 мг/кг, для ацетата свинца – 5,5 мг/кг. Глютаминат натрия давался вместо питьевой воды в виде 1,5 % раствора (по глютаминовой кислоте). Средний объем раствора, выпиваемого за сутки одной крысой, составлял 10-12 мл. Остальные входящие в состав БПК препараты измельчались и давались животным пять раз в неделю в смеси с кормом (пектин отдельно от препаратов «Компливит»). Расчет доз витаминов и минеральных добавок проводили с учетом их физиологической потребности для крыс, которая увеличивалась в

2 - 3 раза, принимая во внимание предположительно повышенный расход витаминов-антиоксидантов на фоне токсического действия фтора и свинца (при этом учитывались также витамины и минералы, входящие в состав стандартного корма).

Использованные показатели состояния организма ясны из представления результатов исследования. Статистическая значимость различий между средними значениями показателей оценивалась с помощью критериев Стьюдента и Мана-Уитни. Применялся также пошаговый дискриминантный анализ для нахождения минимальных комплексов признаков, по которым возможна 100%-но правильная классификация объекта (в данном случае – отнесение крысы к той или иной из двух сравниваемых групп) [2].

Таблица 1

Показатели состояния организма крыс, подвергавшихся субхронической загрузке фтором, свинцом или их комбинацией ($\bar{x} \pm s_x$)

Показатель	Контроль	NaF	Pb ацетат	NaF+Pb ацетат	NaF+Pb ацетат +БПК
Масса тела после заправки, г	233,25 ±4,27	230,77 ±4,27	219,17 ±6,21*	221,67 ±3,16*	215,83 ±4,21*
СПП, сек.	12,42 ±0,79	11,94 ±1,26	14,50 ±1,17	18,34 ±0,56 ^{***}	17,00 ±0,57*
Число заглядываний в норки за 3 мин	6,80 ±0,51	6,20 ±1,21	4,60 ±0,81*	3,70 ±0,68*	5,80 ±1,67
Число пересекаемых квадратов за 3 мин	13,90 ±1,62	17,20 ±4,45	11,80 ±2,09	5,70 ±1,27 ^{***}	9,40 ±2,13
Гемоглобин, г/л	96,01 ±2,62	105,72 ±4,56	78,67 ±2,07*	78,35 ±2,80 [*]	80,41 ±2,24*
Эритроциты, 10 ¹² /л	6,48 ±0,22	6,59 ±0,15	5,29 ±0,14*	5,20 ±0,11 [*]	5,46 ±0,22*
Ретикулоциты, %	16,67 ±2,55	23,10 ±5,94	63,70 ±8,96 *	86,67 ±12,34 [*]	42,86 ±6,40 ^{**}
Активность СДГ, число гранул в 50 лимфоцитов	705,5 ±4,1	590,3 ±7,6*	599,9 ±7,3*	579,8 ±9,9*	678,6 ±13,7 ^{**}
Лимфоциты, %	67,40 ±5,96	66,90 ±2,21	61,11 ±2,95	57,20 ±3,87 ^{*(*)}	62,60 ±2,35
Сегментоядерные нейтрофилы, %	15,50 ±1,59	21,50 ±2,06(*)	29,67 ±2,17*	34,70 ±3,10 [*]	26,20 ±1,97 ^{**}
Моноциты, %	4,50 ±0,99	6,60 ±1,33	6,22 ±1,18	5,20 ±1,17	7,30 ±0,84*
Эозинофилы, %	4,50 ±0,75	4,20 ±0,68	2,50 ±0,50	2,67 ±0,56	4,14 ±0,86

Показатель	Контроль	NaF	Pb ацетат	NaF+Pb ацетат	NaF+Pb ацетат +БПК
Базофилы, %	1	0	1	1	1
Палочкоядерные, %	1,29 ±0,18	1,20 ±0,20	1,22 ±0,15	1,50 ±0,50	2,00 ±0,71
Активность АЛТ в сыворотке крови, мм/ч*л	0,53 ±0,08	0,47 ±0,07	0,67 ±0,06	0,55 ±0,05	0,64 ±0,09
Активность АСТ в сыворотке крови, мм/ч*л	0,62 ±0,10	0,51 ±0,12	0,66 ±0,09	0,57 ±0,10	0,69 ±0,09
Коэффициент де Ритиса	1,22 ±0,15	1,12 ±0,24	1,10 ±0,19	1,11 ±0,19	1,20 ±0,09
МДА в сыворотке крови нмоль/л	4,17 ±0,28	4,67 ±0,26	5,31 ±0,32*	5,00 ±0,35**)	4,12 ±0,29
Каталаза в сыворотке крови, мкмоль/л	0,84 ±0,55	0,62 ±0,16	0,51 ±0,27	0,30 ±0,04 ●	0,22 ±0,02
Церулоплазмин в сыворотке крови, мг/л	25,50 ±1,32	24,64 ±2,33	34,77 ±2,07*	32,97 ±2,40 ● *	33,94 ±1,86*
Суточный объем мочи, мл	30,56 ±4,02	29,38 ±3,07	31,00 ±5,43	39,86 ±3,98	34,13 ±3,15
Удельный вес мочи	1005,60 ±0,59	1005,50 ±0,65	1005,80 ±0,61	1005,71 ±0,57	1006,29 ±0,39
Копропорфирин, в моче нМ/л	83,23 ±37,71	109,69 ±18,62	453,10 ±72,42*	479,78 ±86,45 ● *	432,60 ±67,13*
Копропорфирин, в моче нМ/сут	1,88 ±0,70	3,12 ±0,59	13,71 ±3,00*	17,54 ±2,02 ● *	14,18 ±2,10*
δ-АЛК в моче мкМ/л	1	14,38 ±1,64	152,03 ±14,00*	164,83 ±14,25 *	131,96 ±8,04 ' * *
δ-АЛК в моче мкМ/сут	0,38 ±0,07	0,42 ±0,05	4,33 ±0,58*	6,47 ±0,68 ■ *	4,48 ±0,45 " *
Общий белок в сыворотке крови, г/л	79,67 ±3,61	83,78 ±1,95	71,31 ±2,35	69,75 ±2,50 ● *)	70,93 ±1,22')
Альбумины в сыворотке крови, г/л	39,50 ±0,78	39,61 ±0,70	31,18 ±0,37*	32,31 ±0,93 ● *	33,83 ±1,05*
Глобулины в сыворотке крови, г/л	42,95 ±5,22	47,42 ±2,19	42,96 ±2,26	40,11 ±4,45	38,23 ±1,16
Альбумин/глобулиновый индекс	1,00 ±0,14	0,84 ±0,03	0,76 ±0,04	0,89 ±0,15	0,89 ±0,04
Щелочная фосфатаза в сыворотке крови, нмоль/(с*л)	102,42 ±8,55	99,94 ±12,28	127,15 ±6,94*)	170,90 ±11,81 ■ *)	194,65 ±21,19'
Активность γ-глутаминтрансферазы в сыворотке крови, нмоль/(с*л)	3,34 ±0,27	3,33 ±0,37	4,27 ±0,44	3,87 ±0,27	5,08 ±0,51*
Глутатион, мг/100мл	19,56 ±0,51	19,19 ±0,75	19,33 ±0,63	18,45 ±1,27	19,32 ±0,66
Кальций в крови, ммоль/л	2,91 ±0,04	2,36± 0,08*	2,39 ±0,15*	2,17 ±0,08*	2,68 ±0,09 " *
Креатинин в крови, мкмоль/л	72,30 ±0,03	93,78 ±4,91*	95,21 ±16,37	80,90 ±7,18	89,90 ±7,68*
Креатинин в моче, ммоль/л	1,82 ±0,47	1,78 ±0,41	2,08 ±0,43	1,49 ±0,30	1,18 ±0,37

Показатель	Контроль	NaF	Pb ацетат	NaF+Pb ацетат	NaF+Pb ацетат +БПК
Креатинин в моче, мкмоль/сут	0,05 ±0,01	0,05 ±0,01	0,06 ±0,02	0,05 ±0,01	0,04 ±0,01
Амилаза, Е/л	2955,99 ±146,94	3065,62 ±255,21	3009,25 ±297,64	2899,22 ±190,20	5407,11 ±2383,72
Холинэстераза, Е/л	970,40 ±111,23	990,00 ±84,44	298,83 ±22,40*	255,18 ±23,86*	242,75 ±15,86*
Холестерин, Ммоль/л	1,84 ±0,08	1,92 ±0,13	1,72 ±0,07	1,67 ±0,14	1,80 ±0,12
Глюкоза, Ммоль/л	6,66 ±0,15	6,09 ±0,14*	6,38 ±0,14	6,26 ±0,20	6,48 ±0,19
Микроядра на 1000 полихроматофильных эритроцитов	0,63 ±0,26	1,88 ±0,52*)	2,63 ±0,65*	1,29 ±0,42	0,16 ±0,04
ТТГ, Ммоль/л	0,20 ±0,04	0,16 ±0,02	0,18 ±0,01	0,12 ±0,02 ■	0,16 ±0,04
T4, пмоль/л	31,99 ±1,59	30,15 ±1,71	39,51 ±2,59*	40,21 ±3,02 *)	40,65 ±1,54*
T3, пмоль/л	2,88 ±0,27	3,05 ±0,28	2,97 ±0,38	2,15 ±0,39 ()	2,30 ±0,24
Фтор в моче, мг	0,760 ±0,061	1,300 ±0,089*	0,930 ±0,078	1,320 ±0,061 * ■	1,350 ±0,064*
Фтор в моче мкг/сут	22,07 ±2,48	36,47 ±2,21*	26,26 ±2,65	51,99 ±4,41 * ■	44,92 ±2,36*
Фтор в костях мг/кг	12,57 ±0,53	45,00 ±4,94*	10,25 ±0,94	33,5 ±3,48 * ■	24,94 ±1,69 *)
Свинец в моче, мкг/л	6,81 ±0,49	8,41 ±0,50*)	146,28 ±19,68*	148,04 ±23,69 * ●	74,63 ±8,29 * ..
Свинец в моче, мкг/сут	0,20 ±0,06	0,24 ±0,02	5,03 ±1,33*	5,90 ±1,26 * ●	2,50 ±0,31 * ..
Свинец в крови, мг/л	0,015 ±0,002	0,022 ±0,002*	22,66 ±5,66*	22,39 ±5,12 * ●	30,33 ±7,03*
Свинец в костях, мг/кг	1,98 ±0,29	4,64 ±0,73*	305,54 ±9,53*	279,13 ±17,46 * ●	253,13 ±12,99*

Примечание: «*»-статистически значимое различие с группой «интактный контроль» по критерию Стьюдента и по критерию Манна-Уитни одновременно, $p \leq 0,05$; «●»-статистически значимое различие с группой «NaF» по критерию Стьюдента и по критерию Манна-Уитни одновременно, $p \leq 0,05$; «■»-статистически значимое различие с группой «Pb» по критерию Стьюдента и по критерию Манна-Уитни одновременно, $p \leq 0,05$; «..»-статистически значимое различие с группой «Pb+NaF» по критерию Стьюдента и по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$;

«*»-статистически значимое различие с группой «интактный контроль» по критерию Стьюдента, $p \leq 0,05$; «●»-статистически значимое различие с группой «NaF» по критерию Стьюдента, $p \leq 0,05$; «■»-статистически значимое различие с группой «Pb» по критерию Стьюдента, $p \leq 0,05$; «..»-статистически значимое различие с группой «Pb+NaF» по критерию Стьюдента, $p \leq 0,05$;

«*»-статистически значимое различие с группой «интактный контроль» по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$; «●»-статистически значимое различие с группой «NaF» по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$; «■»-статистически значимое различие с группой «Pb» по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$; «..»-статистически значимое различие с группой «Pb+NaF» по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$;

Результаты и обсуждение.

Как видно из таблицы 1, оба яда или их комбинация вызвали изменения (в сравнении с интактной контрольной группой) по большому числу показателей, причём многие сдвиги можно от-

нести к интегральным признакам интоксикации: например, снижение массы тела; дисбаланс процессов возбуждения и торможения в центральной нервной системе (судя по изменениям суммационно-порогового показателя, двигательной

активности, измеряемой числом пересеченных квадратов и исследовательского поведения - «норкового рефлекса»); общее угнетение энергетического метаболизма, отражаемое снижением активности сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов крови; при этом – некоторое усиление перекисного окисления липидов, судя по содержанию МДА в сыворотке крови, при снижении резервов антиокислительной системы организма, отражаемому снижением активности каталазы; и некоторые другие.

Вместе с тем, ряд сдвигов может быть отнесен к относительно специфичным для эффектов действия свинца и/или фтора. Прежде всего, это относится к типичным показателям действия свинца на красную кровь (снижение содержания гемоглобина и числа эритроцитов при повышенном проценте ретикулоцитов в них) и к тем показателям, которые отражают вызываемые этим металлом нарушения порфиринового метаболизма (резкое повышение содержания дельта-АЛК и копропорфирина в моче). Как для свинца, так и для фтора специфичны нарушения кальциевого метаболизма, проявившиеся снижением содержания кальция в крови. Однако активность щелочной фосфатазы – одного из ключевых ферментов, контролирующих этот метаболизм, была повышена только при действии свинца или его комбинации с фтором. Как фтор, так и особенно свинец проявили свойственную им мутагенность, судя по увеличению числа микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга.

Естественно, что содержание фтора и свинца в организме было резко повышено при соответствующих токсических воздействиях, однако, даже при воздействии одного фтора наблюдалось статистически значимое повышение «фоновой» концентрации свинца в крови, кости и моче.

Сопоставление величин, полученных в группах изолированного и комбинированного воздействия, свидетельствует о том, что по большинству токсикодинамических показателей комбинированный эффект является максимальным, причём в ряде случаев это отличие от изолированного эффекта статистически значимо. В тех случаях, когда рассматриваемый эффект при изолированном воздействии присущ только одному яду, но значимо усиливается в присутствии второго, можно говорить о том, что данная комбинация обладает супераддитивностью (потенцированием, синергизмом) действия. Примерами такого синергизма могут служить сдвиги всех показателей нервной деятельности, содержания ретикулоцитов, экскреции дельта-АЛК, содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови. В других случаях, в которых тот или иной сдвиг вызывают оба яда по отдельности, но при действии комбинации он наиболее выражен, также имеет место эффект комбинированной токсичности, но определить знак возможного отклонения от простой аддитивности не

удаётся.

Ранее было показано (как по гормональным сдвигам, так и по гистологическим изменениям в щитовидной железе), что свинец обладает тиреотоксическим действием, которое может быть ослаблено на фоне действия БПК, в особенности, с включением в него йодной добавки [3]. Хорошо известно и то, что фтор, будучи метаболическим антагонистом йода, также угнетает гормональную функцию щитовидной железы, причём повышенное содержание кальция в рационе крыс может предупредить этот эффект [10]. В нашем эксперименте и фтор, и свинец дали статистически недостаточно значимое снижение уровня тиреотропного гормона, которое при комбинированном воздействии усилилось и приобрело статистическую значимость. Наряду с этим, ни фтор, ни свинец сами по себе не дали снижения уровня трийодтиронина, но при комбинированном воздействии он был снижен (то есть имел место очевидный синергизм). При действии свинца изолированно или в комбинации с фтором уровень тирозина был, напротив, повышен.

Тенденция к действию по типу явного антагонизма, практически отсутствующая по токсикодинамическим показателям, неожиданно проявляется только при оценке комбинированной мутагенности: если фтор и свинец по отдельности вызвали статистически значимое увеличение числа микроядер (соответственно, в 3 и 4 раза), то при комбинированном воздействии это увеличение по сравнению с контрольным показателем было только 2-кратным и при том статистически не значимым.

Суточная экскреция фтора с мочой, оцененная только в конце затравочного периода, при комбинированной интоксикации была значимо выше, чем при обособленной фтористой. Благоприятно ли это увеличение для организма (способствуя его освобождению от фтора) или оно свидетельствует лишь о том, что за предшествующий период комбинированной интоксикации фтора в нём задержалось больше, чем за аналогичный период изолированной фтористой? Вторая гипотеза не подтверждается показателем содержания фтора в костной ткани, которое при комбинированном воздействии даже снижено по сравнению с обособленным воздействием фтора (хотя и не значимо). Гипотезе же о благоприятном влиянии свинца на токсикокинетику фтора явно противоречит отмеченный выше токсикодинамически неблагоприятный характер этой комбинации. К сожалению, мы не располагаем данными о содержании фтора в крови крыс, что не позволяет подтвердить третью, вполне вероятную гипотезу: свинец (через влияние на кальциевый метаболизм или по другим механизмам) препятствует включению фтора в кость, тем самым способствуя повышению его содержания в крови как центральном токсикокинетическом

пуле, а отсюда – и в моче, и в чувствительных к токсическому действию фтора органах-мишенях.

Что же касается содержания свинца в крови и в моче, то воздействие фтора при комбинированной интоксикации на него никак не повлияло. Некоторое повышение задержки свинца в кости под влиянием фтора в комбинированной группе не было статистически значимым, но оно согласуется с тем, что, как указано выше, при затравке одним только фтором накопление «фоновое» свинца в организме, в том числе, в костях также оказалось повышенным. В целом однако можно полагать, что потенцирующее влияние фтора на свинцовую интоксикацию, связано не столько с токсикокинетическими, сколько с токсикодинамическими механизмами взаимодействия.

Дискриминантный анализ показал, что по многим изолированным признакам, которые являются маркерами свинцовой или фтористой экспозиции (содержание соответствующего элемента в организме) или более или менее специфичного эффекта (например, для свинца – дельта-АЛК и копропорфирин в моче) обеспечивается 100%-но правильное отнесение объекта к группе изолированного или комбинированного воздействия. Менее тривиальным результатом можно считать такую же 100%-но правильную дискриминацию по сочетаниям неспецифических признаков интоксикации. Например, группа «свинец» и группа «свинец+фтор» дискриминируются по двум наборам признаков: «ТЗ, МДА, объём мочи» и «щелочная фосфатаза, МДА, лимфоциты». Это может рассматриваться как свидетельство того, что не только по отдельным специфическим признакам, но и по обобщённому функциональному статусу организма эти группы с высокой вероятностью являются выборками из разных множеств.

Месячный курс биопрофилактического комплекса (БПК) ослабил вызванное токсической комбинацией повышение СПП; нормализовал норковый рефлекс и повысил двигательную активность, значимо заторможенную при интоксикации. Наряду с этим, БПК дал статистически значимое снижение числа ретикулоцитов, резко увеличенного при интоксикации, и оказал статистически недостаточно значимое нормализующее влияние на содержание гемоглобина и число эритроцитов, сниженные при интоксикации. Он также нормализовал уровень МДА, повышенный при интоксикации без защиты; незначимо снизил экскрецию копропорфирина и значимо – концентрацию и суточную экскрецию дельта-АЛК, повышенные под влиянием свинца. Кроме того, БПК значимо повысил концентрацию кальция в сыворотке крови, сниженную при интоксикации без защиты.

При гистологическом исследовании (детальное описание которого с морфометрическим ана-

лизом публикуется дополнительно) было найдено, что развитие признаков костного флюороза у крыс, подвергавшихся комбинированному воздействию фтора и свинца, на фоне приёма БПК ослаблено. Это ослабление согласуется с тем, что БПК значимо снизил накопление фтора в скелете, хотя и не повлиял значимо на его почечную экскрецию в конце затравочного периода. Вполне вероятно, что она была повышена в начале, но в конце концов, на её уровне сказалось уменьшенное содержание фтора в организме, явившееся результатом этого повышения экскреции. Обнаружена также статистически незначимая тенденция к снижению под влиянием БПК накопления свинца в кости. Выделение свинца с мочой под влиянием БПК уменьшено, что опять-таки свидетельствует скорее всего не о нарушении его экскреции, а о том, что к концу затравочного периода его содержание в организме под влиянием биопрофилактики уже было снижено.

При дискриминантном анализе были получены 4 набора по 2 и один набор из 4-х признаков, по которым крыса может быть классифицирована как относящаяся к группе комбинированной интоксикации, развившейся без защиты организма или под защитой комплексом БПК, причём направленность влияния того или иного признака соответствует гипотезе именно о защитном действии БПК. Например, вероятность отнесения особи к группе, затравлявшейся под защитой, возрастает со снижением числа микроядер, суточной экскреции копропорфирина, свинца, концентрации дельта-АЛК в моче, содержания ретикулоцитов, но с повышением активности сукцинатдегидрогеназы и содержания кальция в крови.

Заключение. В целом, полученные данные говорят о снижении под влиянием испытанного биопрофилактического комплекса интенсивности комбинированной свинцово-фтористой интоксикации, в развитии которой проявляются признаки как аддитивности, так и потенцирования эффектов свинца и фтора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дегтярева Т.Д., Кашельсон Б.А., Мусличук Ю.И. Фтор и его соединения. / в Филов В.А. (ред.) «Вредные вещества в окружающей среде» (Справочно-информационное издание). Элементы V-VIII групп периодической системы и их неорганические соединения - СПб, НПО «Профессионал». – 2006. – С.265-296.
2. Казмер Ю.И., Кашельсон Б.А., Вараксин А.Н., Киреева Е.П. Некоторые примеры применения дискриминантного анализа для обработки данных экспериментально-токсикологического исследования // Токсикол. Вестник. – 2010 - №6 - С.
3. Кашельсон Б.А., Дегтярева Т.Д., Привалова Л.И. и др. Торможение комплексом биопротекторных средств общетоксического и тиреотоксического действия комбинации металлов - загрязнителей среды обитания // Токсикол. Вестник. – 2004. - 2. – С.23-29.
4. Кашельсон Б.А., Дегтярева Т.Д., Привалова Л.И. и др. Биологическая профилактика экологически обусловленных нарушений здоровья: теоретические предпосылки, экспериментальные данные, оценка эффективности, практическая реализация // «Биосфера». – 2010. – т.2, №3. – С. 375-385.
5. Привалова Л.И. Свинец и его соединения / в Филов В.А. (ред.) «Вредные вещества в окружающей среде» (Справочно-информационное издание). Элементы I-IV групп периодической системы и их неорганические соединения - СПб, НПО «Профессионал». – 2005. – С.400-426.
6. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V. et al. Biological prophylaxis of adverse health effects caused by environmental and occupational impacts – theoretical premises, experimental and field testing, practical realization // Centr. Europ. J. Occup. and Environm. Medic. – 2009. – V.15, No1-2. - P.35-51.
7. Masters R.D., Coplan M. Water treatment with fluorides and enhanced lead uptake // "Fluoride" – 1998. – V.31, No3. – S.25
8. Niu R., Sub Z., Cheng Z., Li Z., Wang J. Decreased learning ability and low hippocampus glutamate in offspring of rats exposed to fluoride and lead.// Environm. Toxicol. and Pharmacol. - 2009. – V.28, No2. – P.254-258.
9. Sawan R.W.W., Leite G.A.S., Saraiva M.G.P., et al. Fluoride increase lead concentrations in whole blood and in calcified tissues from lead-exposed rats.// "Toxicology" – 2010. – v.271, No1-2. – P.21-26.
10. Wang H., Yang Z., Yan X., Wang J. Fluoride-induced thyroid dysfunction in rats: roles of dietary protein and calcium level // Toxicol. and Industr. Health. – 2009. – V.25, No1. – P.49-57

Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kireyeva Ye.P., Yeryomenko O.S., Sutunkova M.P., Kazmer Yu.I., Valamina I.Ye., Minigaliyeva I.A., Sutyorkina Ye.Yu., Bukharova G.Sh.

Joint sub-chronic fluoro-lead intoxication and weakening of its development by means of a bio protectors complex

Medical Research Centre for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Ekaterinburg

At the sub-chronic intra-abdominal priming of rats with sub-lethal doses of sodium fluoride and lead acetate it was shown that a combined toxic action of these substances is additive and sub-additive based on a number of effects. Particularly, the influence of fluorine increases an adverse impact of lead on the porphyria metabolism and lead-induced augmentation of the reticulocytes number in blood; and only a combination of fluorine and lead induces a significant lowering of the thyrotropic hormone level and others. At the background of the administration of the complex having in its composition bio protectors acting on toxicodynamic and toxicokinetic intoxication mechanisms (pectin, sodium glutamate, preparations (Complivite Active and Complivite Calcium D₃), a weakening of a number of effects of the combined adverse action was noted.

Материал поступил в редакцию 07.02.2011 г.

УДК 613.63

Изучение профессиональных токсикантов вредных производств и информативность метода эпидемиологического анализа данных в гигиене труда

Данная работа посвящена изучению поливалентной сенсбилизации к профессиональным токсичным веществам, обладающим выраженным алергизирующим организм работника эффектом и проблеме оценки класса условий труда по ведущему фактору – алергену

(ам). Проблеме нормирования профессиональных алергенов в воздухе рабочей зоны.

Ключевые слова: вредный фактор производства, профессионально зависимый алергоз, класс условий труда

Спиридонов А.М.¹, Мелниченко П.И.², Прохоров Н.И.², Смирнов С.В.³

¹ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в Самарской области Роспотребнадзора РФ,

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Росздрава,

³Самарский медицинский Институт «Реавиз» Минобрнауки РФ.

Введение. Проблема комбинированного действия веществ на организм работающих давно привлекает к себе внимание ученых. Однако, наряду

с многочисленными работами, посвященными изучению тех или иных комбинаций, в частности поливалентного воздействия алергенов, а также

веществ, не отнесенных гигиеническими нормами к категории «аллерген», но с явно выраженными сенсibilизирующими свойствами [1,2], в производственных условиях на территории конкретных регионов, в том числе Самарской области, встречаются единичные научные труды.

В обсуждаемых в литературе документах не ограничено число компонентов смеси, к которой прилагается формула аддитивности. Однако все те неопределенности рассматриваемого подхода к гигиенической регламентации по ПДК, оценке влияния на организм работника исключительно по кратности ПДК, также как и оценке условий труда, класса и степени вредности/опасности, при увеличении числа компонентов возрастают в геометрической прогрессии и делают научно обоснованное решение неосуществимым в реальной жизни, практике.

К тому же чем больше таких компонентов, то очевидно, что для части из них не были установлены ПДК, то есть данный гигиенический критерий оценки действия веществ не может быть использован вообще. Когда этих компонентов десятки, то это препятствие, на наш взгляд, вообще непреодолимо. В связи с чем, нами была поставлена *цель проведения исследований* по установлению возможной взаимосвязи между патологией органов дыхания работников вредных производств и воздействием профессиональных факторов токсико-аллергенной природы при их количественном содержании в воздухе рабочей зоны, не превышающим гигиенический норматив (ПДК).

Материал и методы исследования. Данные о состоянии здоровья получены из первичной учетной медицинской документации:

- карты учета профессиональных заболеваний, ф. № 389/у;
- санитарно-гигиенической характеристики условий труда работника при подозрении у него профессионального заболевания (отравления), ф. № 362-1/у;
- карт эпидемиологического обследования ф. № 357/у;
- актов о случаях профессиональных заболеваний (форма утверждена Постановлением Правительства РФ № 967 от 15.12.2000г.)

Метод эпидемиологического анализа данных, включающий описательный и аналитический этапы, а также методы вариационной статистики с целью выявления какой-либо взаимосвязи между изучаемыми явлениями, а именно: возникновением патологии органов дыхания работников вредных производств и воздействием профессиональных аллергенов.

Всего собрано 1254 первичных медицинских документа.

Результаты и их обсуждение. При детализации факторов производственной среды как химической, так и биологической природы, нами установлено, что в большинстве случаев работники

указанных производств подвергались сочетанному воздействию сенсibilизирующих токсичных веществ.

Полное исключение из производственной среды неблагоприятных факторов химической и биологической природы невозможно из-за технологических, а зачастую и экономических трудностей. Поэтому и вошел в практику принцип ограничения уровня действующих неблагоприятных факторов, то есть принцип гигиенического нормирования. Согласно современной концепции ПДК - это величина, которая не должна вызывать изменений и отклонений в состоянии здоровья работника, хотя и не исключает самого факта нарушения состояния здоровья на уровне ПДК у лиц с повышенной индивидуальной чувствительностью. Все эти рассуждения справедливы только для тех ПДК и ПДУ, которые прошли клинико-гигиеническую проверку.

Кроме того, комбинированное, комплексное и сочетанное действие факторов в условиях производства, зачастую может нарушать надежность гигиенического норматива, рассчитанного, как правило, на изолированное действие. По данным НИИ Медицины труда из 2,5 тысяч химических веществ, имеющих ПДК, клинико-гигиеническую апробацию прошло порядка 30 химических веществ.

Возможно именно по этой же причине у работников гальванического, металлургического производства, производства строительных материалов, мясной промышленности при сочетанном действии в субпороговых концентрациях регистрируется профессиональная патология дыхательной системы, несмотря на то, что достоверного превышения ПДК не установлено.

Индивидуальная чувствительность к тому или иному химическому веществу, веществам биологического происхождения, может быть детерминирована наследственностью либо другими факторами, однако, общебиологические механизмы предрасположения и резистентности во многих случаях остаются неизученными.

Для достижения обозначенной цели нами были проведены исследования на предмет определения количественного и качественного «вклада» загрязнения воздуха рабочей зоны токсичными веществами – аллергенами, а также токсикантами, не являющимися на сегодняшний день согласно гигиеническому регламенту аллергенами, – в паровой, газовой, аэрозольной и пылевой фазах в формировании хронической патологии органов дыхания на примере условий труда работников таких профессий как гальваник, электрогазосварщик, контролер пищевой продукции. Произведена детализация условий труда по химическому и биологическому фактору по материалам санитарно-гигиенических характеристик условий труда при подозрении у работника профессионального заболевания (отравления, ф. № 362-1/у). Полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень заболеваемости работников указанных профессий находится

в тесной прямой зависимости не столько от количественного, сколько от качественного состава примесей в воздухе рабочей зоны с учетом того обстоятельства, что фактическое содержание токсикантов не превышало установленного гигиенического норматива и выставлен класс условий труда в большинстве случаев как 2 – допустимый [3]

Для того, чтобы выяснить наличие связи между качественным составом воздуха рабочей зоны по ведущим факторам производственной среды, включая сенсibiliзирующие, и различными нозологическими формами профессионально зависимой патологии органов дыхания, нами проведен корреляционный анализ с расчетом величин парной линейной корреляции и квадрата корреляционного отношения [4].

Расчет квадрата корреляционного отношения позволил установить статистически значимые величины, определяющие зависимость заболеваемости хронического атрофического ринофаринголарингита, бронхита и бронхиальной астмы токсико-аллергического генеза от веществ химической и биологической природы, в том числе с выраженным сенсibiliзирующим эффектом (табл. 1).

Таблица 1

Вещества, имеющие статистически значимые величины квадрата корреляционного отношения (η^2_{xy}) с заболеваемостью профессионально зависимой патологией органов дыхания

№ п/п	фактор	Класс опасности/ патогенности	Особенность действия на организм	η^2_{xy}
1.	Br. melitensis/suis F. tularensis Cl. botulinum/tetani	2 группа 2 группа 3 группа	патогены	0,91 0,91 0,91
2.	Сг Хлор натрия нитрит Серная кислота Соляная кислота Фенол формальдегид	1 класс 2 класс 1 класс 2 класс 2 класс 2 класс 2 класс	К, А P,O P P P А А,О,К	0,78 0,87 0,91 0,78 0,78 0,78 0,91
3.	ГХЦГ, ДДТ	1 класс	А	0,68
4.	Гризи бацилляции Тетрациклины	1 класс 1 класс 2 класс	А А А	0,78 0,78 0,78
5.	Марганец диоксид в составе: аэрозоль дезинтеграции аэрозоль конденсации фосфин гидрофторид	2 класс 1 класс 1 класс 2 класс	- О P,O	0,68 0,68 0,91 0,87

«К»- канцероген, «О»-остронаправленный механизм действия,
«P»- раздражающего действия, «А» -аллерген

Расчет, произведенный нами статистически значимых коэффициентов линейной корреляции между различными по степени опасности/патогенности веществами/микроорганизмами химической и биологической природы и уровнем заболеваемости органов дыхания работников позволил установить выраженную зависимость показателей заболеваемости от качественного и количественного состава воздуха рабочей зоны в отношении профессиональных факторов токсико-аллергиче-

ской природы преимущественно в субпороговых концентрациях.

Данная зависимость достоверна, так как соответствует степени вероятности безошибочного прогноза более 99,9%, при полученном доверительном критерии $t > 3$ в соответствии со значениями доверительных критериев для трех степеней вероятности по стандартной таблице Н.А. Плохинского [4] (табл. 2).

Таблица 2

Статистически значимые величины коэффициента корреляции (η^2_{xy}) между сенсibiliзирующими факторами производства и хроническими ринофаринголарингитом (А), астматическим бронхитом (Б) и бронхиальной астмой (В)

№ п/п	Вещества	А	Б	В	Класс опасности
		η^2_{xy}			
1.	Br. melitensis/suis	0,851	-	0,879	II
	F. tularensis	0,858	0,576	-	II
	Cl. botulinum/tetani	0,858	-	-	III
2.	Сг	0,822	0,651	-	I
	Хлор	0,788	0,709	-	II
	натрия нитрит	0,918	0,901	0,914	I
	Серная кислота	0,912	0,815	-	II
	Соляная кислота	0,884	0,789	0,829	II
	Фенол	0,756	0,591	-	II
	формальдегид	0,899	0,883	0,809	II
3.	ГХЦГ	0,528	0,524	-	I
4.	Гризин	0,871	0,677	-	I
	бацитрацин	0,766	0,645	-	I
	Тетрациклин	0,888	0,844	0,683	II
5.	Марганец диоксид в составе:				
	аэрозоль дезинтеграции	0,735	0,702	-	II
	аэрозоль конденсации	0,789	0,801	0,706	I
	фосфин	0,875	-	-	I
	гидрофторид	0,755	0,643	-	II

Выводы:

Было установлено, что результаты проведенных исследований, полученные на основании ретроспективного эпидемиологического анализа данных, достаточно информативны и перспективны для раннего выявления хронической профессионально обусловленной патологии органов дыхания и проведения соответствующих профилактических мероприятий на предприятии.

Метод математического анализа, примененный в

настоящем исследовании, достаточно надежен для выводов в медико-социальных исследованиях.

Полученные нами результаты с уровнем достоверности $p < 0,05$ позволяют сделать обоснованное заключение о необходимости пересмотра критериев оценки класса условий труда при длительном в течение рабочей смены контакте работника с изученными нами профессиональными токсикантами в субпороговых концентрациях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Данилин В.А. Особенности влияния на организм комплекса токсических веществ производства СКИ -3 в малых концентрациях (клинико-экспериментальное исследование) // Автореф. дисс. докт. мед. наук.- Горький, 1971.
2. Косарев В.В., Лотков В.С., Бабанов С.А. Профессиональные болезни. Учебное пособие для ВУЗов.-М., «ГЭОТАР-Медиа», 2008. - 160с.
3. Р 2.2.2006-05 «Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса.

Критерии и классификация условий труда» от 01.11.05г.

4. Применение методов статистического анализа для изучения общественного здоровья и здравоохранения / под ред. В.З. Кучеренко.-М.: ГЭОТАР-МЕД, 2011.- 245с.

Spiridonov A.M.¹, Melnichenko P.I.², Prokhorov N.I.², Smirnov S.V.³

Study of occupational toxicants in the industrial production and the information value of a method based on epidemiology-analyzed data in occupational hygiene

¹ Center for Hygiene and Epidemiology in the Samara Region, Samara

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University,

³ Samara Medical Institute «Reaviz»

A study was conducted on a polyvalent sensibilization to occupational toxic substances having an expressed allergenic effect, as well as on the problem of assessment of working conditions classes basing on a leading allergizing factor-allergen. The issue of regulating occupational allergens in the occupational air was considered.

Материал поступил в редакцию 25.02.2011 г.

Значение гигиенического мониторинга алкогольной ситуации в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения на региональном уровне (на примере Ростовской области)

Айдинов Г. Т.¹, Свечников В.С.¹,
Алексеев С. П.¹,
Гуливец А.Н.²

¹Кафедра гигиены ФПК и ППС ГОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет»
²Отделение гигиены питания и гигиены детей и подростков
ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области»

Предлагаемая методология оценки алкогольной ситуации позволяет определить лиц, составляющих группу риска по потреблению алкоголя, а также оценить распространенность этого фактора риска среди населения региона. Результаты мониторинга алкогольной ситуации и профилактические мероприятия, разработанные на основе полученной информации, приводят к по-

ниманию значимости алкогольного фактора как интегральной опасности нанесения ущерба здоровью человека, тем самым способствуя решению гигиенических проблем химической безопасности населения региона.

Ключевые слова: алкогольная ситуация, социально-гигиенический мониторинг.

Введение. Уровень потребления алкоголя в любой стране тесно связан с масштабностью обусловленным им состоянием здоровья и является индикатором серьезности этих проблем. На современном этапе в систему токсикологического мониторинга не включён анализ донозологических форм потребления алкоголя населением регионов с целью дальнейшей оценки и прогнозирования развития алкогольной ситуации, а также динамичного реагирования на данный постоянно изменяющийся процесс. Надежные и достоверные данные о реальном потреблении алкоголя являются основой для совершенствования социально-экономической политики государства, принятия решений, направленных на регулирование производства, продажи и потребления алкоголя, способствуя решению гигиенических проблем химической безопасности населения региона.

Материалы и методы исследования. Информационной базой исследования явились:

Исследование по изучению потребления алкогольных напитков населением Ростовской области в 2009 году, проведённое на основе общеобластной многоступенчатой стратифицированной со случайным отбором опрошенных выборки объёмом 3 тысячи человек.

Данные анализа формы отраслевого статистического наблюдения 12-07 «Сведения о результатах токсикологического мониторинга».

При проведении исследования индивидуального потребления алкогольных напитков анкетным методом был использован алгоритм расчета под названием QF-измерение (quantity-frequency measure): расчет среднего уровня потребления алкогольных

напитков, основывающийся на измерении его средней частоты и средней дозы в течение 12 месяцев, предшествовавших исследованию, с дальнейшим перерасчётом на абсолютный этиловый спирт. Статистический анализ проводился в статистической программе SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version. Сбор и анализ данных об острых отравлениях алкогольной и спиртосодержащей продукцией осуществлялся в автоматизированной системе «Социально-гигиенический мониторинг».

Результаты исследования и их обсуждение:

В результате проведённого исследования выявлено, что среди женщин преобладают случайно пьющие – 65,9%, а среди мужчин – систематически пьющие – 23,6% (табл. 1).

Изменение интенсивности алкоголизации в зависимости от возраста приобретает вид восходящей кривой. Употребляющих спиртные напитки чрезмерно часто и в больших количествах (более 20 г чистого этанола в день) среди взрослого населения около 36% (в основном за счёт мужчин всех возрастных групп). 17 % населения Ростовской области потребляют алкоголь в количестве, превышающем черту безопасного потребления с точки зрения здоровой и продолжительной жизни.

Анализ результатов анкетирования населения Ростовской области, потребляющего алкогольные напитки в опасных количествах, продемонстрировал, что опасное потребление алкоголя, наиболее характерно для мужчин (76 % от данной группы) 40-59 лет, которые во время проведения интервью: состояли в зарегистрированном или гражданском браке, имели среднее специальное образование, имели технический профиль образования, имели

Таблица 1

Возрастно-половое распределение населения в процентах от данной возрастной группы по формам употребления алкоголя (частотно-количественный критерий, предложенный Э.Е. Бехтелем, 1986 г.)

Возраст, годы	Абстиненты		Случайно пьющие		Умеренно пьющие		Систематически пьющие		Привычно пьющие	
	муж	жен	муж	жен	муж	жен	муж	жен	муж	жен
18-29	11,7	19,9	47,3	65,8	11,7	6,6	17,2	5,4	12,1	2,2
30-39	10,7	15,3	27,5	66,4	16,8	10,7	30,6	4,7	14,4	2,9
40-59	8,6	21,3	34,5	67,7	13,9	4,2	24,9	4,2	18,1	2,6
60-74	10,2	30,3	40,7	57,4	13,9	4,1	14,8	4,1	20,4	4,1
>75	38,9	52,9	16,7	29,4	5,6	0,0	22,2	5,9	16,7	11,8
Итого	10,5	20,4	36,0	65,9	14,0	6,3	23,6	4,6	15,9	2,8

постоянное место работы в сфере производства, относились к употреблению алкоголя, как: «ощущаю положительный эффект от употребления алкоголя», оценивали своё потребление алкогольных напитков как непроблемное, убеждённые, что наиболее полезным из всех алкогольных напитков являются крепкие, попробовавшие алкогольные напитки в возрасте 14-16 лет.

Определение и оценка экспозиции этиловым спиртом на население Ростовской области проводились в 2 этапа: на первом этапе осуществлялась первичная оценка потребления алкоголя; на втором этапе с целью выявления алкогольного напитка, формирующего экспозицию этиловым спиртом, а также групп населения с повышенным риском данной экспозиции, осуществлялось углубленное изучение экспозиции этиловым спиртом на население Ростовской области. Для расчёта экспозиции использовались медиана и 90-й перцентиль потребления этилового спирта. Далее проводилось ранжирование алкогольных напитков по вкладу в общее значение экспозиции.

Риск развития не канцерогенных эффектов оценивался через расчёт коэффициента опасности, выражающего отношение оценённой дозы к допустимой. За критерий оценки было принято избыточное потребление алкоголя - более 20 г чистого алкоголя в день [2]. Исходными данными для анализа стали значения медианы потребления этилового спирта и 90-й перцентиль потребления этилового спирта для различных видов алкогольных напитков и пива.

Значение экспозиции на основании медианы потребления этилового спирта составило 0,009 г/кг массы тела/сутки. Значение экспозиции на основании 90-го перцентилья потребления этилового спирта составило 0,4 г/кг массы тела/сутки. Ранжирование алкогольных напитков по вкладу в общее

значение экспозиции: пиво - 75,9%, крепкие спиртные напитки - 15,5%, некрепленое вино - 8,10%, крепленое вино - 0,5%.

При анализе преимущественного потребления различных видов алкогольных напитков и пива выявлено, что территории с неблагоприятной алкогольной ситуацией отличаются высоким уровнем потребления пива.

Коэффициент опасности на уровне медианы HQ_{med} составил 0,03, на уровне 90-го перцентилья потребления этилового спирта $HQ_{90\%}$ составил 1,46. Таким образом, HQ на уровне медианы не превышает 1,0, а на уровне 90-го перцентилья превышает 1,0. Учитывая полученные результаты, опираясь на общие принципы методологии оценки риска, можно сделать вывод, что необходимо усовершенствование мероприятий по решению проблемы потребления алкоголя на местном уровне, особенно среди групп людей, употребляющих главным образом пиво и крепкие алкогольные напитки.

Анализ формы отраслевого статистического наблюдения ф. 12-07 «Сведения о результатах токсикологического мониторинга» выявил аналогичную ситуацию: наибольшая смертность от острых отравлений спиртосодержащей продукцией характерна для мужчин (79% всех случаев отравления спиртосодержащей продукцией, закончившихся летально), трудоспособного возраста (на возраст 40-59 лет приходится 50% умерших от отравления спиртосодержащей продукцией). Высокий показатель смертности от острых отравлений спиртосодержащей продукцией зарегистрирован на территориях Ростовской области, где коэффициент опасности $HQ_{90\%}$ по данным проведённого исследования потребления алкогольных напитков превышал единицу.

Полученные результаты исследования под-

тверждаются также данными Федеральной службы государственной статистики: с 2002 по 2009 год продажи пива организациями оптовой торговли Ростовской области возросли в 46 раз (с 2891,4 тыс. дкл. в 2002 году до 13229,61 тыс. дкл. в 2009 году), в то же время продажи вин виноградных возросли всего лишь в 1,1 раза (с 1980,9 тыс. дкл. в 2002 году до 2090,41 тыс. дкл. в 2009 году), продажи водки и ликёроводочных изделий - в 1,6 раза (с 1897,2 тыс. дкл. в 2002 году до 2950,26 дкл. в 2009 году) [1,3]. Этот факт не является положительным явлением и не свидетельствует о снижении алкоголизации населения и снижению остроты проблемы, так как злоупотребление пивом способствует развитию наиболее злокачественных форм алкоголизма, осо-

бенно в молодом возрасте.

Гигиенический мониторинг алкогольной ситуации позволит проводить оценку проводимых работ на различных этапах антиалкогольных программ. При оценке проводимых работ важно использовать подходы, которые позволяют в короткие сроки определить ход развития программы.

Различные стратегические направления развития программы имеют результаты на отдельных этапах её выполнения и могут служить показателями для оценки получаемых результатов. Таковыми показателями могут быть: индекс алкоголизации населения - доля потребляющих алкоголь в количестве, превышающем черту безопасного потребления с точки зрения здоровой и продолжи-

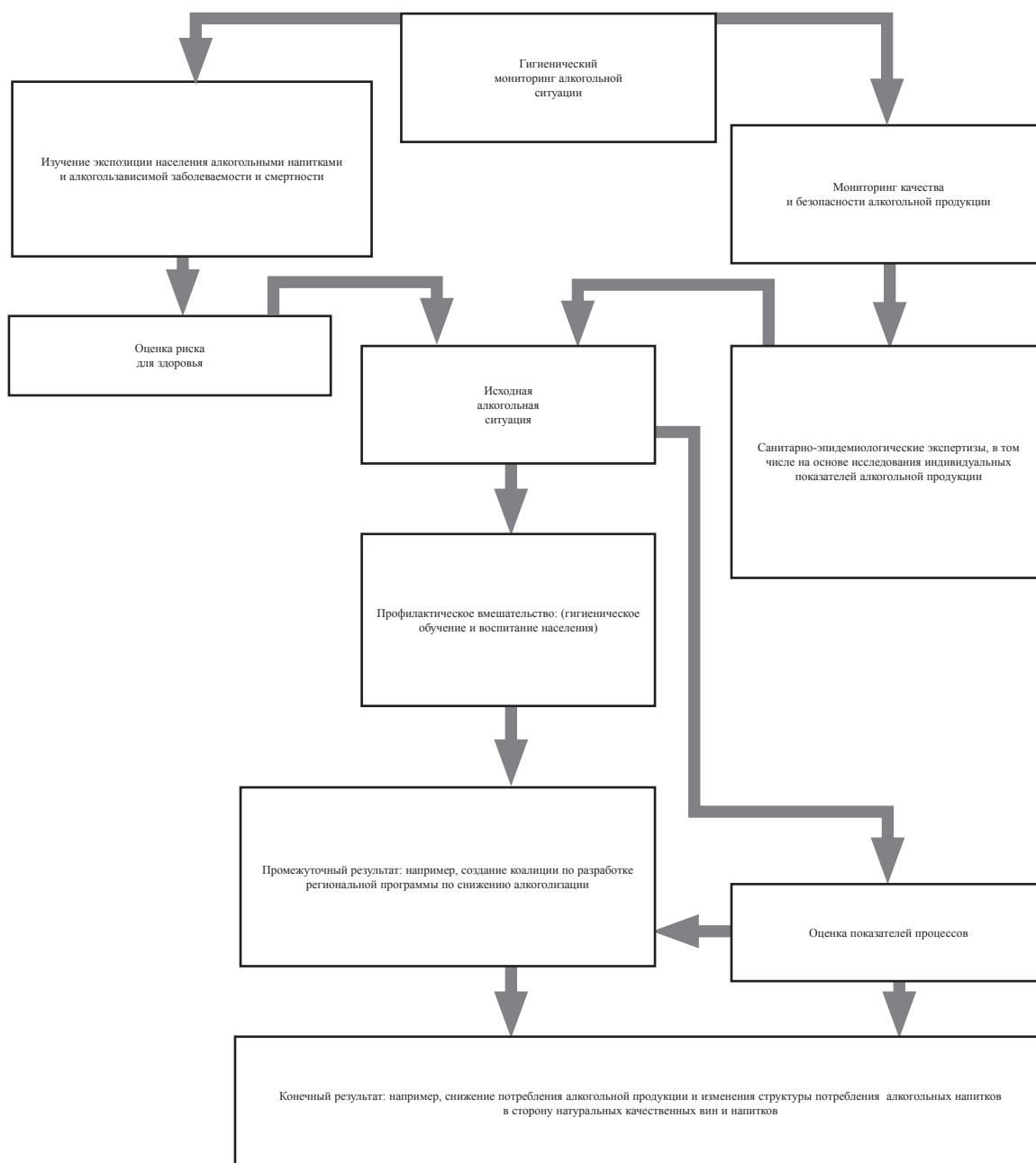


Рис. Региональная модель оценки осуществления алкогольной программы и программы формирования здорового образа жизни и пути решения проблемы алкоголизации населения

тельной жизни (20 г в день); коэффициент опасности как по центильной тенденции экспозиции (с учетом медианной дозы в зависимости от характера распределения), так и по верхней границе экспозиции (с учетом 90%-го процентиля этого распределения).

Оценку программы и пути решения проблемы алкоголизации населения можно представить в виде схемы (рис.), куда включены обсуждаемые составляющие.

Выводы: Потребление алкоголя в Ростовской области характеризуется: большим количеством потребляемого алкоголя, увеличением интенсивности алкоголизации населения с возрастом, существенными различиями в объеме потребления алкоголя мужчинами и женщинами, преимущественным потреблением алкоголя в виде пива и крепких алкогольных напитков. При этом пиво не столько замещает, сколько дополняет достаточно высокие продажи крепкого алкоголя.

Представленная комплексная система сбора информации, ее анализа может рассматриваться как научно обоснованная технология мониторинга за состоянием здоровья населения, призванная обеспечить организации Роспотребнадзора наиболее важной и современной гигиенической информацией, касающейся потребления алкогольных напитков населением Ростовской области.

Применяемый в настоящем исследовании вопросник может быть использован для изучения распространенности факторов риска по потреблению алкоголя, а результаты - в качестве индикатора

факторов риска при проведении их мониторинга.

Гигиенический мониторинг алкогольной ситуации на региональном уровне следует использовать как источник научно обоснованной и современной гигиенической информации на региональном уровне, необходимой для оценки осуществления антиалкогольных программ и программ формирования здорового образа жизни в соответствии с принципами: актуальности, научности, дифференцированного подхода, индивидуального подхода, иллюстративности.

Необходимо усовершенствование профилактических мероприятий по решению проблемы потребления алкоголя в Ростовской области, особенно среди групп людей, употребляющих главным образом пиво и крепкие алкогольные напитки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Оптово-розничный рынок товаров Ростовской области в 2002 – 2008 гг. Статистический сборник. - Ростов-на-Дону: Ростовстат. 2008. – 39 с.
2. Потёмкина Р.А., Глазунов И.С., Оганов Р.Г. и др. Мониторинг поведенческих факторов риска неинфекционных заболеваний среди населения. Руководство. - М.: Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины Минздрава РФ. 2004. – 52 с.
3. Производство, оптовая и розничная торговля алкогольной продукцией и пивом на территории Ростовской

области в январе-декабре 2009 года. Статистический бюллетень. – Ростов-на-Дону: Ростовстат. 2010. – 10 с.

Aidinov G.T.¹, Svechnikov V.S.¹, Alekseyenko S.P.¹, Gulivets A.N.²

Importance of hygienic monitoring of the alcoholic situation to ensure sanitary and epidemiological well-being of the population on the regional level (on the example of the Rostov region)

¹Hygiene Chair, Rostov State Medical University

²Children's and teen-agers' Nutrition Hygiene Department, Center for Hygiene and Epidemiology in the Rostov Region, Rostov

A methodology of assessing an alcohol situation is proposed to determine the alcohol-consuming population group at risk and to assess the extent of this risk factor among the large population in the region. The outcome of the alcohol situation monitoring and prophylactic measures based on the information generated allows to get aware of the significance of the alcohol factor as integral hazard to human health. Thus, it will contribute to the solution of hygienic issues related to the population's chemical safety in the region.

Материал поступил в редакцию 29.03.2010 г.

Особенности детоксикационных свойств серосодержащих веществ при тяжелом отравлении крыс этанолом

Дитионит натрия в большей степени, чем метабисульфит натрия и унитиол проявлял детоксикационные свойства при остром отравлении крыс этанолом. Эффекты препарата были связаны со значительным снижением продуктов окисления этанола, антиоксидантным и вторич-

ным цитопротективным действием на мембранные структуры гепатоцитов.

Ключевые слова: детоксикационные свойства, этанол

Введение. Рост напряженности в социуме, сопровождающийся увеличением вероятности пагубного влияния окружающей среды на человека, определяет актуальность поиска препаратов широкого спектра действия для лечения алкогольных отравлений. В настоящее время накоплены значительные данные о механизмах действия этанола, однако способов терапии интоксикаций этанолом не так много.

При поиске средств лечения похмельного синдрома должны учитываться различные точки токсического действия этанола. К перспективным направлениям относится использование средств, сочетающих способность ускорять метаболизм, связывать и выводить продукты окисления этанола, а также предупреждать его модулирующее влияние на медиаторные системы (ГАМК и глутаматные рецепторы) [1, 8].

В качестве веществ, ускоряющих метаболизм алкоголя, в настоящее время применяют «Зорекс» и метадоксил [2, 5]. Для купирования побочных явлений алкогольной интоксикации широко используют тиосульфат натрия и унитиол [2], тогда как другие серосодержащие вещества не нашли применения на практике. Это определило *цель настоящего исследования.*

Методы исследования. Эксперименты выполнены на 350 белых нелинейных крысах-самцах, массой 180–240 г, содержащихся в условиях вивария в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н).. Острое отравление вызывали внутрибрюшинным (в/б) введением 33 % раствора этанола в дозе 0,75 ЛД₅₀ (3 г/кг), что обуславливало развитие картины тяжелого отравления. Растворы серосодержащих средств (унитиол 50 мг/кг, метабисульфит натрия 50 мг/кг, дитионит натрия 10 мг/кг) готовили *ex tempore* и вводили внутривенно (в/в) через 15 мин после введения этанола. Крысам контрольной группы в/в вводили воду для инъекций.

Для оценки эффективности терапии использовали интегральную шкалу [4] 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.

Исследование показателей плазмы крови (АСТ, АЛТ, ЛДГ, ЩФ, ГГТП, общий белок и билирубин) проводили на биохимическом анализаторе «Roche OmniC» с использованием стандартных наборов реактивов. Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови животных, реагирующих с 2'-тиобарбитуровой кислотой, оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА) через 1, 2, 3, 6, 8, 12, 24 ч после введения этанола на флуориметре Hitachi F-7000 при длине волны возбуждения 515 нм и длине волны испускания 554 нм [10]. 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 [14]. Концентрацию этанола в крови определяли энзиматическим методом, основанном на расщеплении алкогольдегидрогеназой этанола в присутствии НАД⁺ до ацетальдегида [9]. 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 их обсуждение. Данные, полученные у крыс в группах, леченных унитиолом и метабисульфитом натрия, достоверно не отличались от контрольных показателей. Дитионит натрия способствовал более быстрой регрессии признаков от-

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

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

равления, что определило снижение тяжести интоксикации. Тем не менее, полученные результаты не позволяют с достоверностью говорить о величине активности какого-либо из изучаемых средств.

Учитывая данные предварительных экспериментов, изучение влияния серосодержащих средств на биохимические показатели крови проводили в период их максимальных изменений (через 4 ч после отравления) (таблица 1).

Из всех исследуемых соединений только дитионит натрия оказывал влияние на величину биохимических изменений, что подтверждалось снижением активности АЛТ с $116 \pm 13,6$ ед/л до $75 \pm 6,6$ ед/л ($p \leq 0,05$) и общего белка с $68,5 \pm 3,87$ г/л до $61,2 \pm 2,91$ г/л. Очевидно, что та-

кой эффект серосодержащего вещества был связан как с его детоксикационным действием, так и со вторичным протективным действием на мембранные структуры гепатоцитов.

После применения унитиола и метабисульфита нормализации биохимических показателей не отмечали, что, очевидно, отражало их недостаточные детоксикационные свойства.

Таблица 1

Влияние серосодержащих средств на биохимические показатели крови крыс после в/б введения этанола (3 г/кг) (n=6)

Показатель	Экспериментальные группы, доза			
	контроль	унитиол, 50 мг/кг	метабисульфит, 50 мг/кг	дитионит, 10 мг/кг
АСТ, ед/л	296±35,8	234±20,9	236±18,4	233±27,7
АЛТ, ед/л	116,0±13,60	98,0±4,30	94,0±5,23	75,0±6,61*
Билирубин, 10^{-4} М/л	5,1±0,84	3,1±0,15*	5,0±0,17	4,5±0,87
ЩФ, мг/дл	602±53,0	528±27,5	544±29,7	536±38,8
ГГТП, ед/л	1,3±0,28	2,0±0,45	2,2±0,31	2,7±0,67
ЛДГ, ед/л	1036±134,3	1019±121,6	1023±109,4	1041±158,5
Общий белок, г/л	68,5±3,87	66,0±2,42	62,1±3,08	61,2±2,91

Примечание: * - различия с животными контрольной группы достоверны при $p \leq 0,05$

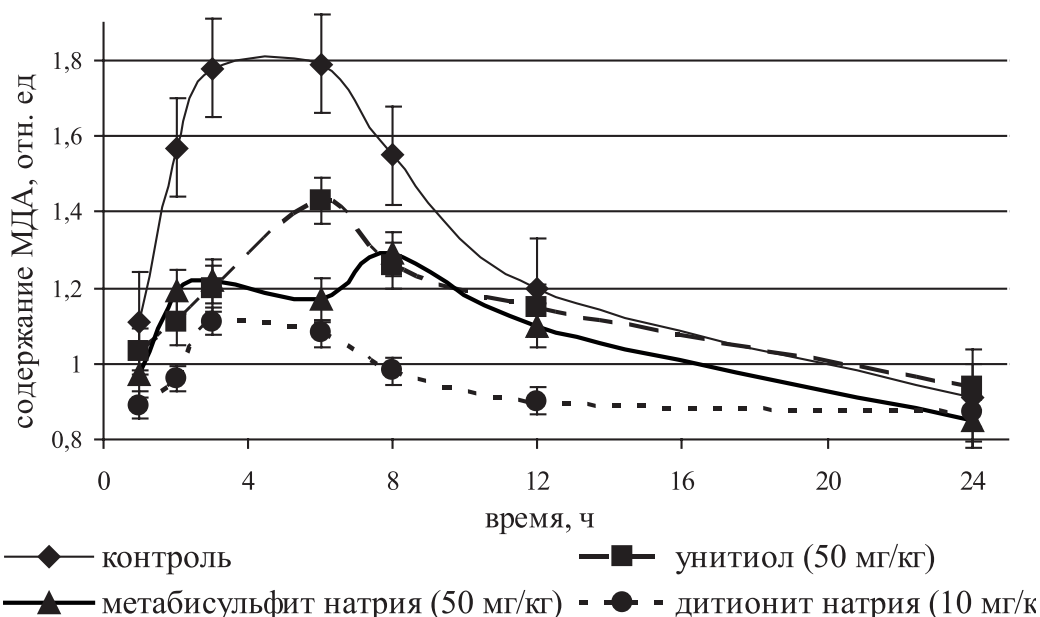


Рис. 1 – Влияние серосодержащих средств на содержание МДА в плазме крови крыс после в/б введения этанола (3 г/кг) (n=6)

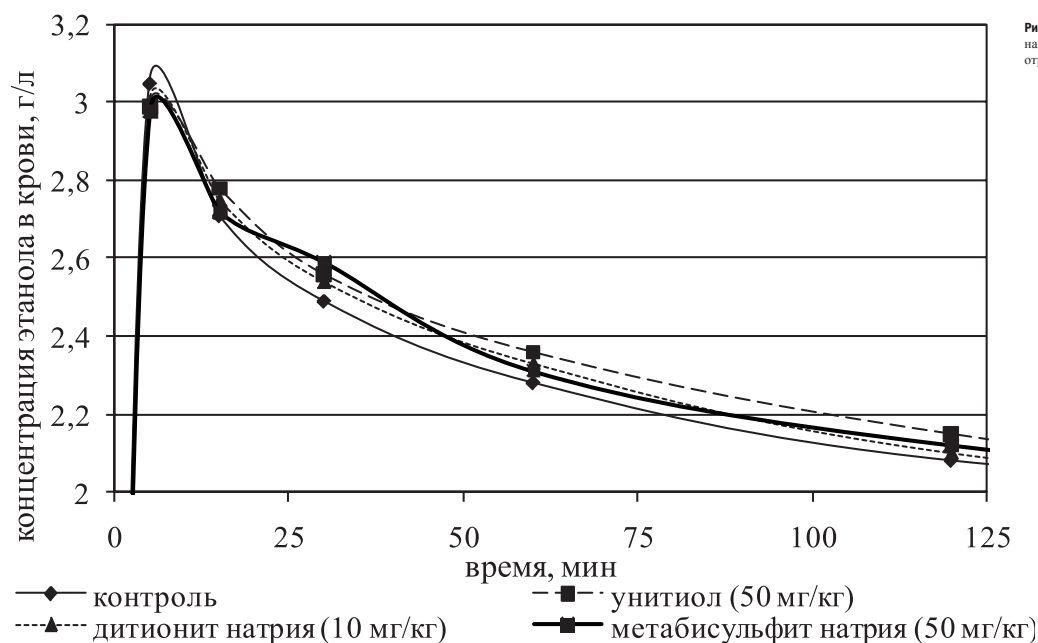


Рис. 2 – Влияние серосодержащих средств на динамику изменения концентрации этанола в крови отравленных крыс

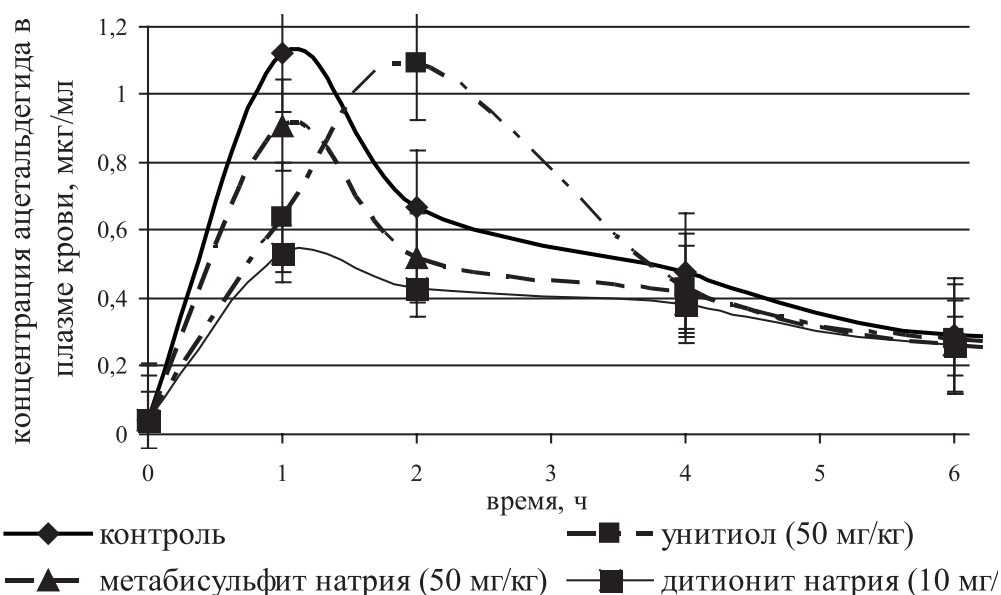


Рис. 3 – Влияние серосодержащих средств на динамику изменения концентрации ацетальдегида в плазме крови отравленных крыс

Учитывая данные литературы о повышении НАДФ-оксидазного пути образования активных форм кислорода (АФК) при избытке ацетальдегида [1, 11, 12] и об антирадикальных свойствах серосодержащих соединений: сульфитов [6], бисульфитов, в том числе метабисульфита [7], представлялось необходимым оценить антиоксидантные свойства каждого тиосодержащего вещества.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что острое отравление этанолом сопровождалось заметным усилением ПОЛ, которое оценивали по уровню МДА (рисунок 1). В плазме крови отравленных животных отмечали более чем 2-кратное увеличение концентрации МДА (через 6 ч), которая снижалась через 1 сут. При введении метабисульфита натрия и унитиола достоверное снижение содержания МДА в плазме крови крыс регистрировали через 2 ч после отрав-

ления этанолом. Максимальные значения этого показателя после лечения унитиолом составили $1,43 \pm 0,107$ отн. ед. (6 ч), тогда как метабисульфитом натрия - $1,29 \pm 0,064$ отн. ед. (8 ч). Полученные результаты были достоверно ниже показателей крыс контрольной группы.

Введение опытным животным дитионита натрия способствовало достоверному снижению уровня МДА через 1 ч после отравления крыс этанолом. В дальнейшем отмечали незначительное увеличение показателя с максимумом на 3 ч ($1,11 \pm 0,112$ отн. ед.). Через 8 ч уровень МДА у животных этой группы был достоверно меньше (на 36,8 %). Максимальное снижение МДА при применении дитионита натрия составило 37-40 % ($p \leq 0,001$), что было существенно выше, чем при использовании других серосодержащих соединений.

Учитывая более высокую связывающую способность в отношении ацетальдегида у унитиола по сравнению с моносульфидами [5], представлялось важным сравнить его эффекты с метабисульфитом и дитионитом натрия.

Показано, что у интактных крыс концентрация этанола в крови составила в среднем $0,15 \pm 0,03$ г/л. Максимальный уровень этанола в крови животных наблюдали через 5 мин после его в/б введения (рисунок 2). Значимое снижение концентрации этанола в крови животных регистрировали в течение первых 120 мин, и через 1 сут этот показатель соответствовал фоновым значениям.

Введение серосодержащих веществ не оказывало влияния на уровень этанола в крови отравленных животных, тогда как при анализе концентрации ацетальдегида отмечали ряд различий (рисунок 3).

Максимальную концентрацию ацетальдегида в плазме крови наблюдали через 1 ч после введения крысам этанола (в среднем $1,12 \pm 0,184$ мкг/мл). У интактных животных этот показатель составил в среднем $0,05 \pm 0,006$ мкг/мл. Через 24 ч полученные значения достоверно не отличались от значений интактной группы животных, а в ряде случаев были достоверно ниже. Метабисульфит натрия (10 мг/кг) практически не оказывал влияния на содержание ацетальдегида. Противоречивые данные получены при оценке эффективности унитиола (50 мг/кг). Несмотря на кратковременное снижение уровня ацетальдегида до $0,64 \pm 0,176$ мкг/кг, пик максимальной концентрации альдегида в плазме крови отравленных этанолом крыс смещался к 2 ч ($1,09 \pm 0,162$ мкг/кг), при этом значения

достоверно отличались от показателей животных контрольной группы. Особенности действия метабисульфита натрия и унитиола позволяют предположить у них слабые ацетальдегид-связывающие свойства и отсутствие влияния на скорость метаболизма этанола, что противоречит данным некоторых авторов [3].

Противоположные данные получены у животных, леченных дитионитом натрия (10 мг/кг). Показано почти 2-кратное уменьшение концентрации ацетальдегида в плазме крови крыс по сравнению с животными контрольной группы через 1 ч после введения этанола. Через 2 ч после отравления тенденция к снижению концентрации альдегида (до $0,43 \pm 0,052$ мкг/кг) сохранялась, при этом показатель был достоверно ниже значений животных контрольной и опытных групп.

Выводы:

1. Дитионит натрия, в большей степени, чем метабисульфит натрия и унитиол способствует замедлению процессов ПОЛ по уровню МДА и предупреждает повышение маркеров повреждения гепатоцитов у крыс отравленных этанолом.

2. Введение отравленным животным дитионита натрия (10 мг/кг) предупреждает резкое увеличение концентрации ацетальдегида в плазме крови.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гилман А.Г. // Клиническая фармакология. – М.: Практика, 2006. – 520 с.
2. Зенович С.М., Калинин А.Г., Брюн Е.А. [и др.] // Эксп. наркологию. – 2006. - Т. 4, № 8. – С. 77-80.
3. Зенович С.М., Калинин А.Г., Халилов Э.М. [и др.] // Эксп. наркологию. – 2004. - № 4. – С. 30-33.
4. Нужный В.П., Демешина И.В., Забирова И.Г. [и др.] // Токсикол. вестник. – 1999. - № 2. – С. 2-8.
5. Bondarenko G.N., Zenovich S.M. // Biomed. chem. – 2007. – Vol. 53, № 6. – P. 729-735.
6. Derin N., Yargıçođlu P., Aslan M. [et al.] // Toxicol. Ind. health. – 2006. – Vol. 22, № 6. – P. 233-240.
7. Elmas O., Aslan M., Çađlar S. [et al.] // Regul. toxicol. pharmacol. – 2005. – Vol. 42, № 1. – P. 77-82.
8. Ito S., Mori T., Kanazawa H. [et al.] // Toxicology. – 2007. – Vol. 240, № 1-2. – P. 96-110.
9. Jones D., Gerber L.P., Drell W. // Clin. chem. – 1970. – Vol. 16. – P. 402.
10. Kosugi H., Kojima T. // Lipids. – 1993. – Vol. 28, № 4. – P. 337-343.
11. Mira L., Maia L., Barreira L. [et al.] // Arch. biochem. biophys. – 1995. – Vol. 318, № 1. – P. 53-58.
12. Miskevich D.A., Petushok N.E., Gerasimchik P.A. [et al.] // Bull. exp. biol. med. – 2007. – Vol. 143, № 1. – P. 43-45.
13. Pushpalatha K. // Acta biol. hung. – 2007. – Vol. 58, № 2. – P. 173-185.
14. Saczk A.A., Okumura L.L., Firmino de Oliveira M. [et al.] // Anal. bioanal. chem. – 2005. – Vol. 381, № 8. – P. 1619-1624.

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

Particularities of detoxification properties of sulfur-containing substances at a heavy poisoning of rats by ethanol

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

Sodium dithionite manifests to a greater extent detoxification properties at an acute poisoning of rats by ethanol than sodium metabisulfite and unitiol. Effects of the preparation are linked to a significant decrease of ethanol oxidation products, ethanol anti-oxidation and secondary cyto-protective action on hepatocytes membrane structures.

Материал поступил в редакцию 06.09.2010 г.

УДК 615.91

Синдром эндогенной интоксикации в патогенезе состояния отмены опиоидов в условиях применения лимфотропных технологий

Целью настоящей работы была оценка детоксикационного эффекта межкостистых лимфотропных инъекций (МЛИ), лимфотропно-сорбционной и лимфотропно-озоновой технологий в патогенезе острой и подострой фаз состояния отмены опиоидов. Объектом исследования явились 201 больных, распределенных по четырем однородным группам. Группа сравнения получала стандартную терапию, 1-я основная дополнительно к стандартной терапии курс МЛИ, 2-я основная - комплекс МЛИ и энтеросорбции, 3-я основная - комплекс МЛИ и озонотерапии. Обследование пациентов осуществляли на 2-й и 8-й день лечения. Показано, что в условиях стандартной терапии растормаживание процессов детоксикации организма приобретает патогенетическую значимость, что в сочетании с перенапряжением почечного и иммунного звеньев системы естественной детоксикации организма приводит к генерализации эндо-

Огудов А.С.¹, Любарский М.С.²,
Сенцов В.Г.³

¹ГБУЗ НСО «Новосибирский областной наркологический диспансер», г. Новосибирск

²Учреждение РАМН «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН», г. Новосибирск

³Кафедра токсикологии и скорой медицинской помощи Уральской государственной медицинской академии, областной Центр лечения острых отравлений, г. Екатеринбург

токсикоза и нарушению процесса выздоровления. Детоксикационный эффект МЛИ подтверждался ограничением патогенетического значения синдрома эндогенной интоксикации и сохранением функционального резерва системы естественной детоксикации организма. Лимфотропно-сорбционная и лимфотропно-озоновая технологии путем протезирования барьерно-фильтрационной и стимуляции иммунной функций лимфатической системы обеспечивали существенное усиление детоксикации организма в патогенетическом и неспецифическом направлениях и ускорение процесса выздоровления.

Ключевые слова: состояние отмены опиоидов, синдром эндогенной интоксикации, лимфотропные технологии.

Введение. Распространенность злоупотребления опиоидами в России в течение последних 25 лет росла высокими темпами и приобрела характер развернутого эпидемического процесса [5]. Сохраняющийся чрезвычайно низкий показатель выздоровления больных опийной наркоманией и прирост случаев их преждевременной смертности определяют актуальность дальнейшего изучения патогенеза состояния отмены опиоидов (СОО) и разработки новых принципов терапии. К числу важных и недостаточно решенных к настоящему времени проблем относится детоксикация организма больных в СОО. В действующих стандартах лечения инфузионная детоксикация предусмотрена только для ведения тяжелой категории пациентов [11]. В литературе достаточно широко представлены сведения об использовании в терапии СОО плазмафереза и гемосорбции, однако эти методы требуют значительных технико-экономических затрат и являются высоко инвазивными, поэтому не применимы для всей популяции больных наркоманией [1,4]. Исходя из современных представлений, первичным патогенетическим механизмом синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ) является чрезмерная продукция нейромедиаторов, индуцирующая процессы альтерации тканей [9]. Большой научный интерес представляют сведе-

ния о резком возрастании катехоламинообеспечения брюшнополостных и паховых лимфоузлов у наркологических больных [13]. Включение в патогенез СЭИ вторичных механизмов (резорбционного и ретенционного) определяет накопление в биологических средах организма продуктов некробиоза и нарушенного метаболизма путем усиления процессов их резорбции и торможения элиминации [12]. В настоящее время не вызывает сомнений, что в патогенезе вторичной эндотоксемии ведущее значение принадлежит дисфункции лимфатической системы, ответственной за транспорт эндогенных токсикантов из тканей в кровь [8]. Показано, что критерием неэффективности механизмов лимфодетоксикации являлся последовательный переход токсического процесса из стадии местного тканевого токсикоза к стадиям лимфотоксикоза и генерализованного эндотоксикоза [2]. Данные литературы позволяют полагать, что использование принципов усиления эвакуаторно-транспортной функции лимфатической системы с помощью технологически простой и малоинвазивной методики межкостистых лимфотропных инъекций (МЛИ) и комбинирования МЛИ с неинвазивными методами энтеросорбции и озонотерапии при СОО является не только патогенетически оправданным, но и применим для всей популяции пациен-

тов. Это обуславливает актуальность настоящей работы, целью которой была оценка детоксикационного эффекта МЛИ, лимфотропно-сорбционной и лимфотропно-озоновой технологий в патогенезе острой и подострой фаз СОО.

Методика исследования. В исследование были включены 201 больных обоего пола, страдающих зависимостью от опиоидов 2-й стадии и поступивших в стационарное отделение №1 ГБУЗ НСО «Новосибирский областной наркологический диспансер». Критериями отбора пациентов являлись длительный стаж заболевания (в среднем $7,5 \pm 0,4$ года), пребывание в СОО, добровольное информированное согласие на участие в исследовании, критериями исключения - наличие сопутствующих эндогенных, неврологических и соматических заболеваний, способных затруднить объективную оценку основной патологии и отказ от участия в обследовании. Больные были распределены по четырем группам, однородным по полу, возрасту, длительности заболевания и используемой дозе героина. Группа сравнения («ГС», 67 человек) получала терапию, максимально соответствующую стандартам лечения наркологических больных [11]. Пациентам 1-й основной группы («1О-МЛИ», 44 человека) дополнительно к стандартной терапии в 1-й, 3-й и 5-й день лечения выполняли инъекции комплексной лекарственной смеси в составе: лидокаина 80 мг, лидазы 32 УЕ, кеторола 120 мг, даларгина 2 мг, 0,9% раствора натрия хлорида 2 мл подкожно на глубину от 1 до 2 см в две точки в проекции позвоночного столба на уровне Th11-Th12 и L4-L5 на середине расстояния между остистыми отростками соседних позвонков по 5 мл с интервалом в 48 часов [7]. Пациенты 2-й основной группы («2О-МЛИ+ЭС», 48 человек) дополнительно к стандартной терапии получали комплекс МЛИ и энтеросорбции (ЭС). ЭС проводили в те же дни, что и МЛИ, с помощью препарата «Энтеросгель», суточная доза которого составляла 45г. (в три приема). Пациенты 3-й основной группы («3О-МЛИ+ОТ», 42 человека) дополнительно к стандартной терапии получали комплекс МЛИ и озонотерапии (ОТ). ОТ проводили методов орошения озono-кислородной смесью всего тела больного в терапевтической комбинезоне, соединенном с озонатором «Орион-Си», производительность по озону составляла 500 мг/час [10]. Курс ОТ включал 3 сеанса продолжительностью 30 минут, проводимых в первый день до начала основных лечебных мероприятий, а также на 3-й и 5-й день лечения. Отмечалась хорошая переносимость больными всех указанных методик. Осложнений как во время их проведения, так и на протяжении всего срока госпитализации не зарегистрировано. Обследование пациентов осуществляли на 2-й (острая фаза СОО) и 8-й (подострая фаза) дни терапии. Определяли содержание в крови калия (K^+), натрия (Na^+), креатинина, в моче креатинина, оценивали концентрационный индекс креатинина (КИК), представляющий собой соотношение: концентрация креатинина в моче/концентрация креатинина в крови [6]. Рассчитывали осмолярность плазмы (On) по формуле: $On = 2 (Na^+ + K^+) + \text{глюкоза} + \text{мочевина}$ (Стар-

ченко А.А., 2002). Концентрацию средних молекул (СМ) в сыворотке крови определяли скрининг-методом в модификации Н.И. Габриэлян и В.И. Липатовой (1984) на спектрофотометре «СФ-46» при длине волны 254 нм. Содержание СМ выражали в условных единицах, за норму принимали $0,303 \pm 0,024$ (Николаев А.А. и др., 1999). Для определения циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови использовали метод преципитации раствором полиэтиленгликоля (ПЭГ-6000) с концентрацией 3,5% и 7,0% (Гринкевич Ю.А., 1974). Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) рассчитывали по формуле Я.Я. Кальф-Калифа (1941), за норму принимали 0,5-1,5 ед. Количественную оценку клинических признаков СЭИ проводили по шкале Himmelsbach с выделением слабой, умеренной и выраженной ее степени (Минко А. И., Линский И. В., 2005).

Показатели СЭИ сопоставляли с маркерами активности неспецифических реакций разных структурно-функциональных уровней системной регуляции, которые определяли с помощью общепринятых лабораторных и инструментальных методов. В качестве маркеров метаболических процессов использовали концентрации в крови глюкозы, липидов, ЛДГ, КК, АлТ, АсТ, коэффициент де Ритиса, экскрецию с мочой гликозаминогликанов (ГАГ). Для оценки иммунного статуса методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных АТ НПЦ «Медбио-спектр» определяли относительные показатели $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD56^+$, $CD16^+$ и $CD20^+$ -лимфоцитов. Кислородзависимую биоцидность лейкоцитов исследовали на спектрофотометре Anthos ht II (Финляндия). Концентрацию специфических белков в сыворотке крови определяли на биохимическом анализаторе Clima-15 MC (Испания). Для оценки стрессорной реакции по данным лейкоцитарной формулы с учетом количества лейкоцитов определяли ранги напряженности адаптационных механизмов (РНАМ), дополнительно для изучения активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатической нервной системы рассчитывали нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ) и вегетативный индекс (ВИ) (Копанев В.А., 2005; Угрюмов В.М., 1974; Вейн А.М., 2003). Полученный материал обрабатывали статистически путем расчета средних величин и их ошибок, дисперсий, t-критерия Стьюдента. За уровень достоверности принимали $p < 0,05$. Системный анализ причинно-следственных закономерностей проводили с помощью метода плеяд, включающего многоуровневый анализ статистически значимых коэффициентов корреляции и их графическое представление (Гедымин М. Ю. и др., 1988).

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что перенапряжение системы естественной детоксикации организма в условиях токсического воздействия нейромедиаторов и возникновения местного тканевого и лимфотоксикоза при стандартной терапии СОО являлось причиной активации в патогенезе острой фазы у пациентов 1-й основной группы неспецифической детоксицирующей реакции, заклю-

чавшейся в усилении канальцевой реабсорбции воды и формировании гипоосмолярного синдрома. Это подтверждала тенденция к увеличению среднего значения КИК и сопряженное ($r=0,900$) снижение относительно нормативных величин уровня осмолярности плазмы и натриемии (табл. 1). Выявлена корреляционная зависимость колебаний КИК от концентрации СМ ($r=0,382$), показавшая патогенетическую значимость вторичных механизмов СЭИ в патологическом ратормаживании детоксицирующих процессов (рис.1). Анализ маркеров СЭИ выявил низкую эффективность данной реакции: содержание в крови СМ превышало норму в 1,7 раза, ЦИК определялось в пределах ее верхней половины, среднее значение ЛИИ соответствовало верхнему пределу (табл. 1). Корреляционные связи между колебаниями величин ЛИИ, ЦИК и концентрацией СМ ($r=0,354\pm 0,497$) подтверждали формирование патогенетической схемы лимфотоксикоза. Клиническую значимость СЭИ установило тестирование пациентов с помощью шкалы Himmelsbach, показатель которой ($20,6\pm 0,8$ баллов) соответствовал выраженной степени интоксикации. Прямые корреляционные связи между колебаниями данного показателя и величины ЛИИ ($r=0,337$), концентрации СМ ($r=0,345$) отражали сходное по интенсивности влияние на клиническую выраженность интоксикации со стороны разных патогенетических звеньев СЭИ (рис. 1 а, в).

В патогенезе подострой фазы СОО накопление в биологических средах организма эндотоксинов индуцировало ответную реакцию секреторно-транспортной системы почек, являющейся основным путем элиминации СМ [3]. Это проявлялось достоверным ($p<0,05$) уменьшением величины КИК, динамика которой отражала усиление диуреза. Патогенетическая значимость данной реакции определялась прогрессированием гипоосмолярного синдрома вследствие истощения механизмов, участвующих в поддержании водно-электролитного гомеостаза. Выявлено тесно связанное ($r=0,915$) понижение Op и уровня Na^+ , что объяснялось его потерями с мочой. Одновременно возникла корреляционная зависимость колебаний уровня Op и натриемии от ряда маркеров стрессорной и иммуновоспалительных реакций, патогенное влияние которых являлось условием сохранения гипоосмолярности плазмы. Анализ динамики маркеров СЭИ показал, что неспецифическая детоксицирующая реакция секреторно-транспортной системы почек являлась низкоэффективной. В период подострой фазы СОО она не обеспечивала очищения организма от СМ, концентрация которых превышала верхний предел нормы в 2,3 раза и находилась в корреляционных связях с колебаниями величин ЛИИ и ЦИК ($r=0,440\pm 0,445$), подтверждавших генерализацию эндотоксикоза. Вместе с тем, средние величины данных маркеров в пределах верхней половины нормы уменьшались. Корреляционный анализ показал, что это обусловлено компенсаторным усилением активности ГГНС и фагоцитарной системы, лежащим в основе редукции клинических проявлений СЭИ. Средний балл показателя шкалы Himmelsbach

соответствовал уровню умеренной интенсивности интоксикации и находился в корреляционной связи с концентрацией СМ ($r=0,394$). Ликвидация сопряженности с величиной ЛИИ, вероятно, обусловлена устранением влияния на иммунные механизмы со стороны первичной эндотоксемии. Обратные корреляционные связи между показателями шкалы Himmelsbach и $CD20^+$ ($r=-0,310$), $CD56^+$, $CD16^+$ ($r=-0,405$) подтверждали неспецифическое модулирующее влияние компенсаторных реакций иммунной системы.

Установлено, что наряду с доказанной многочисленными исследованиями стимуляцией лимфообразования и лимфооттока, детоксицирующий эффект МЛИ обусловлен редукцией патологической системы стресса, определявшей снижение напряженности системы детоксикации организма и выраженности процессов деструкции тканей. Это подтверждалось достоверным относительно значений группы сравнения снижением средних величин ЛИИ (в 1,5 раза, $p<0,05$), ЦИК (в 1,3 раза, $p<0,05$) и тенденция к снижению концентрации СМ. Суммация указанных эффектов обеспечивала ограничение в патогенезе острой фазы роли СЭИ, что отражалось в разобщении его патогенетической схемы и выключении альтернативных детоксицирующих реакций (рис.1 б, в). Следствием этого являлись нормализация параметров водно-электролитного баланса и деятельности секреторно-транспортной системы почек, маркером которой служило достоверное снижение величины КИК (в 1,6 раза, $p<0,05$). Одновременно выявлено достоверное (в 1,7 раза, $p<0,05$) снижение показателя шкалы Himmelsbach, величина которого ($12,4\pm 0,8$ баллов) характеризовала умеренную интенсивность интоксикации.

В патогенезе подострой фазы СОО у пациентов 1-й основной группы возникла тенденция к усилению напряженности системы естественной детоксикации организма, вместе с тем не достигавшая степени, существовавшей в условиях стандартной терапии. Это выражалось тенденцией к увеличению средних значений КИК, ЦИК и ЛИИ, утративших достоверный характер различий с величинами группы сравнения. Возникали корреляционные связи между колебаниями уровня СМ и ЛИИ ($r=0,354$), а также ЛИИ и НЛИ, коэффициента де Ритиса и гликемии, подтверждавшие сопряженность активации механизмов детоксикации и метаболизма. В сочетании с активацией воспалительной реакции, это обеспечивало тенденцию к снижению концентрации СМ, определявшейся в 1,6 раза ниже уровня группы сравнения. Формирование лимфотоксикоза не вызывало вторичных нарушений гомеостаза, что устраняло причину возникновения альтернативных детоксицирующих реакций. Существенное снижение числа корреляционных связей, прежде всего у показателей СМ и ЦИК, относительно данных группы сравнения отражало отсутствие генерализованного эндотоксикоза. Это определяло дальнейшее снижение клинических критериев выраженности СЭИ: средний балл показателя шкалы Himmelsbach относительно величины группы сравнения был достоверно ниже (в 2,7 раза, $p<0,05$) и констатировал слабую интенсивность

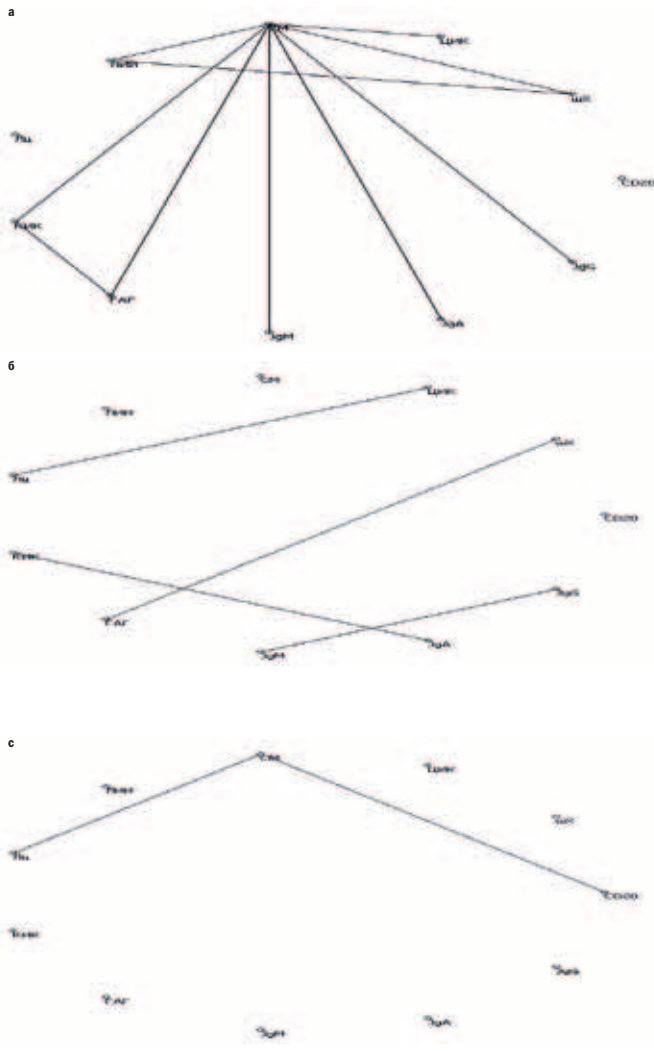


Рис. 1. Различные корреляционных взаимосвязей показателей СЭИ и неспецифических детоксицирующих реакций в патогенезе острой фазы в условиях стандартной терапии (а) и МЛИ (б). Плеяда (в) характеризует общие для сравниваемых групп закономерности участия в процессах детоксикации организма иммунной системы. Условные обозначения: СМ- средние молекулы, ЛИИ- лейкоцитарный индекс литоксикации, ЦИК- циркулирующие иммунные комплексы, КИК- концентрационный индекс креатинина, CD20- CD20+-лимфоциты, Лц- абсолютный показатель лимфоцитов, IgG, IgM, IgA- иммуноглобулины классов G, M и A, ГАГ- гликозаминогликаны, пХ- показатель шкалы Himmelsbach.

интоксикации.

Комбинирование МЛИ с энтеросорбцией, протезирующей функции барьерно-фильтрационных механизмов лимфатической системы, предупреждало формирование у пациентов 2-й основной группы в острой фазе СОО значимого уровня лимфотоксикоза. Средняя концентрация СМ ($0,367 \pm 0,02$ у.е.) регистрировалась достоверно (в 1,4 раза, $p < 0,05$) ниже уровня группы сравнения. Маркеры СЭИ, не сопряженные с сорбционными характеристиками энтеросгеля, достоверно не различались с величинами группы сравнения

и определялись в пределах верхней половины нормы. Взаимосвязи между колебаниями величин ЛИИ и СМ ($r=0,354$), СМ и ЦИК ($r=0,497$) подтверждали усиление ответа организма на лимфотоксикоз в условиях лимфотропно-сорбционной терапии. Разобшение СМ и КИК, величина которого соответствовала среднему уровню нормы, отражало устранение значимого влияния лимфотоксикоза на секреторно-транспортную систему почек. Одновременно возникли прямые взаимосвязи между колебаниями концентрации СМ, величины КИК и уровнем Оп ($r=0,350 \pm 0,480$), означавшие усиление обратных положительных связей в системе детоксикации организма. Закономерно, что средние величины Оп, натриемии и калиемии определялись в границах нормы достоверно выше значений группы сравнения ($p < 0,05$). Следствием этого являлось достоверное относительно показателя группы сравнения снижение клинических признаков интоксикации по шкале Himmelsbach (в 1,7 раза, $p < 0,05$). Корреляционный анализ обнаружил устранение сопряженности показателя данной шкалы с колебаниями маркеров СЭИ и формирование обратных взаимосвязей с маркерами адаптационных реакций клеточно-тканевых систем, подтверждавших функциональную значимость модулирующего влияния методики на тканевое звено лимфатической системы.

В подострой фазе СОО концентрация СМ и величина ЛИИ определялись в пределах нормы, достоверно ниже значений группы сравнения (в 2,4 и 1,6 раза, $p < 0,05$). Различия между концентрациями ЦИК в сравниваемых группах не имели достоверного характера. Одновременно выявлен разрыв взаимосвязей между данными маркерами, отражавший разобшение патогенетических звеньев лимфотоксикоза. Корреляционные связи между колебаниями СМ, ЛИИ и величинами РНАМ и НЛИ ($r=0,456$ и $r=0,670$) свидетельствовали об усилении механизма обратных связей и повышении реактивности организма. Адекватный резерв протективных механизмов лимфатической системы определял отсутствие в динамике СОО патогенных сдвигов параметров водно-электролитного гомеостаза, несмотря на достоверное ($p < 0,05$) снижение величины КИК. Средние значения Оп, плазменных концентраций K^+ и Na^+ существенно не изменялись и достоверно превышали показатели группы сравнения ($p < 0,05$). Устранение патогенетической роли СЭИ и нормализация деятельности системы естественной детоксикации организма нашли положительное отражение в динамике показателя шкалы Himmelsbach, определявшегося достоверно (в 4,3 раза, $p < 0,05$) ниже величины группы сравнения, что означало отсутствие клинических признаков интоксикации.

Управляющее воздействие лимфотропно-озоновой методики на СЭИ в острой фазе СОО преимущественно обусловлено стимуляцией процессов окислительного метаболизма нейтрофилов и активности клеточного звена иммунитета, следствием которой являлось достоверное снижение иммунологических маркеров СЭИ. Средняя величина ЛИИ и концентрация в крови ЦИК относительно значений группы сравнения были

Динамика показателей синдрома эндогенной интоксикации у пациентов групп сравнения (n=67) (M±m)

Показатели	Периоды проведения исследования	
	Острая фаза	Подострая фаза
ЛИИ (у.е.)	1,46±0,1	1,28±0,1
МСМ (у.е.)	0,522±0,04	0,708±168
ЦИК (у.е.)	52,9±3,2	41,7±2,4
Креатинин крови (мкмоль/л)	0,076±0,003	0,074±0,003
Креатинин мочи (мкмоль/кг>сут)	11,5±1,2	6,6±0,5*
КИК (ед.)	159,8±6,4	91,6±7,1*
Оп (ммоль/л)	286,4±0,6	285,6±0,9
Na ⁺ (ммоль/л)	134,4±0,3	133,8±0,4
K ⁺ (ммоль/л)	4,0±0,06	4,1±0,05

Примечание: * - отличия достоверны в сравнении с данными острой фазы (p<0,05).

достоверно ниже (в 1,5 и 1,8 раза, p<0,05) и свидетельствовали об отсутствии интоксикации. Средняя концентрация СМ приобретала тенденцию к снижению, однако определялась в 1,6 раза выше нормы, что объяснялось стимуляцией транспорта эндотоксинов из тканей в кровь. В сочетании с отсутствием корреляционных связей между маркерами СЭИ, что характеризовало стадию местного тканевого токсикоза. Логичным следствием уменьшения токсической нагрузки являлось снижение напряженности секреторно-транспортной системы почек и нормализация параметров водно-электролитного гомеостаза. Одновременно снижение патогенетического значения СЭИ определяло достоверное уменьшение показателя шкалы Himmelsbach, средняя величина которого определялась в 1,7 раза ниже уровня группы сравнения (p<0,05).

Модуляция комплекса протективных механизмов лимфатической системы сочетанным курсом МЛИ и озонотерапии оказывала позитивное влияние на динамику маркеров СЭИ у пациентов 3-й основной группы в подострой фазе СОО. Средние величины ЛИИ и ЦИК определялись в пределах нижней половины нормы, соответственно в 1,9 и 1,3 раза ниже значений группы сравнения (p<0,05), что служило критерием отсутствия СЭИ. Это подтверждали данные тестирования пациентов с помощью шкалы Himmelsbach, показатель которой достоверно снижался и определялся в 5,1 раза ниже уровня группы сравнения (p<0,05). Концентрация СМ регистрировалась выше нормативного значения в 1,3 раза, что свидетельствовало о сохранении стадии местного тканевого токсикоза. Ответная реакция организма на данный уровень развития токсического процесса проявлялась сопряженностью динамики СМ и КИК, отражавшей повышение участия почечных механизмов детоксикации организма в элиминации эндотоксинов. Возникавшее

усиление диуреза не вызывало существенных изменений величин Оп, натриемии и калиемии, что объяснялось сохранением функционального резерва секреторно-транспортной системы почек.

Выводы:

Проведенные исследования убедительно доказывают, что стандартная терапия СОО не обеспечивает адекватной защиты организма от токсического воздействия, индуцирующего патологическое растворение альтернативных механизмов детоксикации и возникновение вторичных нарушений гомеостаза. В сочетании с низкой эффективностью у больных в СОО неспецифических детоксицирующих реакций секреторно-транспортной системы почек и иммунной системы, это приводит к генерализации СЭИ и нарушению процесса выздоровления.

Доказана патогенетическая оправданность включения в терапевтический комплекс методик, стимулирующих детоксикационную функцию лимфатической системы. Установлено, что детоксикационный эффект МЛИ обусловлен снижением напряженности почечного и иммунного звеньев системы естественной детоксикации организма, выраженности процессов деструкции тканей и вторичного тканевого токсикоза. Однако увеличение скорости лимфотока и объема токсичной лимфы в таких условиях определяет риск снижения барьерно-фильтрационной функции лимфатических узлов и развития токсического процесса.

Рациональное комбинирование МЛИ с ЭС и ОТ в различных клинических ситуациях за счет протезирования барьерно-фильтрационной и стимуляции иммунной функций лимфатической системы позволяет существенно повысить качество лечебного эффекта и усилить детоксикацию организма в пато- и неспецифическом направлениях. Одновременно это обеспечивает безопасность применения стандартного

комплекса методов, положительно влияет на течение и исходы СОО и улучшает качество жизни пациентов в период лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахметов Э. Р. Эфферентная терапия в комплексной профилактике и лечении больных наркологического профиля / Э. Р. Ахметов, Е. В. Арсеньев, П. З. Рылецкий // Наркология. - 2006. - № 6. - С. 10-12.
2. Бородин Ю. И. Теоретические предпосылки профилактической лимфологии и здоровье человека в Сибири / Ю. И. Бородин // Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии : мат. междунар. конф. - Новосибирск, 2008. - Т. 1. - С. 54-56.
3. Гольдфарб Ю. С. Неотложная терапия острых отравлений и эндотоксикозов: Справочник / Ю. С. Гольдфарб, В. И. Казачков, Е. А. Лужинов, С. Г. Мусселус, Ю. Н. Остапенко, Г. Н. Сухолодова; под ред. Е. А. Лужинова. - М. : Медицина, 2001. - 304 с.
4. Демидкин В. В. Интенсивная терапия героинового абстинентного синдрома : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / В. В. Демидкин. - Санкт-Петербург, 2001. - 38 с.
5. Дмитриева Т. Б. О наркологической ситуации в России к началу XXI в. и возможностях медицинских служб по ее улучшению / Т. Б. Дмитриева, А. Л. Игони // Русский медицинский журнал. - 2007. - № 6. - С. 3-6.
6. Инновационные консультативно-диагностические технологии в амбулаторно-поликлинической практике / под ред. Ю. И. Бравве. - Новосибирск : Сибмедиздат НГМУ, 2009. - 326 с.
7. Огудов А. С. Способ коррекции болевого синдрома при состоянии отмены опиоидов / А.С. Огудов, В.И. Коленков, М.С. Любарский, А.А. Смагин // Решение о выдаче патента на изобретение от 19.10.2010, дата регистрации 26.01.2010, дата приоритета 26.01.2010, заявка на изобретение №2010102632/15.
8. Попов П. В. Влияние лимфостимуляции на лимфатический дренаж задней конечности крысы на фоне центрального лимфостаза / П. В. Попов, Б. Я. Сыропятов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2008. - № 1. - С. 12-13.
9. Пятницкая И. Н. Общая и частная наркология. Руководство для врачей / И. Н. Пятницкая. - М. : Медицина, 2008. - 638 с.
10. Сибельдина Л. А. Озоновые технологии в медицине с использованием аппаратуры производства ООО «Орион-СП» (методические рекомендации) / Л. А. Сибельдина, Л. И. Герасимова. - Москва, 2006. - 58 с.
11. Стандарты (модели протоколов) диагностики и лечения наркологических больных / Приложение к приказу Минздрава России от 22.04.98 № 140.
12. Фурсов С. А. Сорбционные и лимфотропные технологии в профилактике, лечении инфекционных осложнений и коррекции эндотоксикоза в послеоперационном периоде при колоректальном раке : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / С. А. Фурсов. - Новосибирск, 2006. - 29 с.
13. Чевагина Н. Н. Морфофункциональная характеристика и катехоламинообеспечение лимфатических узлов различной специализации в условиях хронической интоксикации алкоголем / Н. Н. Чевагина, В. А. Изранов // Лимфология: эксперимент, клиника : сб. науч. тр. / под ред. Ю. И. Бородина. - Новосибирск, 1995. - Т. 3. - С. 61-64.

Ogudov A.S.¹, Lyubarskiy M.S.², Sentsov V.G.³

Endogenic intoxication syndrome in pathogenesis of the opioid withdrawal status under conditions of using lymphotropic technics

¹Novosibirsk Regional Narcological Dispensary

²Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk

³Ural State Medical Academy, Ekaterinburg

The present article is dedicated to the assessment of detoxification effects of interosseal lymphotropic injections (IOLI), lymphotropic sorption and lymphotropic ozone technics in pathogenesis of acute and sub-acute stages of the opioid withdrawal status. 201 patients were distributed in to 4 homogenous groups. The comparison group received a standard therapy; the main first group was treated with IOLI in addition to the standard treatment, the second main one was treated with the IOLI complex and enterosorption, the third was treated with the IOLI complex and ozone therapy. Patients were examined on the 2nd and 8th days of the treatment. It was shown that when using a standard therapy, the desinhibition of detoxification processes in the organism acquires a pathogenetic significance which in combination with overexertion of renal and immune parts of the natural detoxification system leads to the generalization of endotoxemia and disturbances in the recovery process. The IOLI detoxification effect was confirmed by the restriction of the pathogenetic significance of the endogenic intoxication syndrome and preservation of the functional reserve of the organism natural detoxification system. The lymphotropic sorption and lymphotropic ozonic technics ensured a substantial enhancement of the organism detoxification in pathogenetic and non-specific directions and accelerated the convalescence process by repairing the barrier filtration function and stimulating the immune function of the lymphatic system.

Материал поступил в редакцию 10.01.2011 г.

Сочетанное применение энтеросорбции и кишечного лаважа при острых пероральных отравлениях психофармакологическими средствами

Маткевич В.А.,
Лужников Е.А.,
Рожков П.Г.,
Белова М.В.

Научно-исследовательский институт скорой
помощи
им. Н.В. Склифосовского, г. Москва

Проведена сравнительная характеристика эффективности кишечного лаважа в отдельности и кишечного лаважа в сочетании с энтеросорбцией в качестве детоксикации организма при острых пероральных отравлениях психофармакологическими средствами. Показано, что применение солевого энтерального раствора, по ионному составу идентичного составу химуса тонкой кишки человека, для промывания желу-

дочно-кишечного тракта не снижает сорбционных свойств энтеросорбентов при их сочетании. При отравлениях психофармакологическими средствами энтеросорбция в сочетании с кишечным лаважем повышает эффективность последнего на 20–30%.

Ключевые слова: энтеросорбция, кишечный лаваж, эффективность.

Введение. В структуре бытовых интоксикаций пероральные отравления психофармакологическими средствами (ПФС), составляющие более 70%, характеризуются тем, что в полость желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) может поступить единовременно значительное количество токсикантов: до нескольких сотен летальных доз. Одним из проявлений острой интоксикации ПФС является угнетение двигательной активности кишечника. При этом в полости ЖКТ образуется депо, из которого токсичное вещество продолжает поступать в кровь, вследствие чего снижается эффективность методов очищения крови. Таким образом, при острых пероральных отравлениях удаление токсикантов из ЖКТ является первоочередной задачей. В отделении острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского с этой целью применяются зондовое промывание желудка (ПЖ), энтеросорбция (ЭС) и кишечный лаваж (КЛ). ПЖ – обязательная технически простая процедура, позволяющая эффективно удалять токсиканты из полости желудка [1, 2]. После ПЖ через желудочный зонд показано введение энтеросорбентов. Однако их эффективность находится в обратной зависимости от времени, прошедшего с момента приема токсиканта [1, 2]. Такой феномен объясняется пространственно-временным разобщением контакта сорбента, введенного в желудок, с токсикантом, находящимся в тонкой кишке, вследствие пареза ЖКТ. Слабительные средства в этом случае оказываются не эффективными [1, 2]. Задача обеспечения условий для продвижения энтеросорбента по ЖКТ при парезе последнего может быть решена с помощью КЛ. Сочетанное применение ЭС и КЛ обеспечивает продвижение энтеросорбента с потоком промывающей жидкости по всей длине ЖКТ, способствует увеличению его контакта с массой токсиканта за счет их перемешивания [5]. Однако имеются сведения о том, что при сочетанном применении энтеросорбентов и промывания кишечника солевым раствором, содержащим полиэтиленгликоль – общее орошение ки-

шечника (ООК) при острых отравлениях, лаважный раствор уменьшает сорбционную емкость энтеросорбентов и, тем самым, лишает смысла их сочетание [11, 13, 14].

Целью работы явилась оценка эффективности сочетанного применения кишечного лаважа и энтеросорбции на примере острых пероральных отравлений психофармакологическими средствами.

Методики исследования. Под наблюдением находились 55 больных с острыми пероральными отравлениями амитриптилином, лепонексом и финлепсином. Тяжесть отравления была обусловлена наличием комы (в 100% случаев), осложненной нарушениями внешнего дыхания (в 78,6% случаев) и гемодинамики – первичным токсикогенным коллапсом (в 31% случаев) и первичным кардиотоксическим эффектом (в 6,3% случаев). Больным с нарушениями дыхания проводили интубацию трахеи и по показаниям – искусственную вентиляцию легких. Всем больным при поступлении в отделение острых отравлений проводили промывание желудка через зонд до чистых промывных вод. В I группе (30 больных) в стандартном комплексе лечебных мероприятий с целью энтеральной детоксикации организма применяли только КЛ. Во II группе (25 больных) проводили КЛ в сочетании с ЭС. В последнем случае после промывания желудка вводили энтеросорбент «Микросорб-П» или «Оптисорб» в количестве 80 г в виде водной взвеси. После чего желудочный зонд удаляли и устанавливали двуканальный назогастральный зонд, который соединяли с гравитационной системой для энтерального питания емкостью 1,5–2 л, наполненной солевым энтеральным раствором (СЭР). Состав СЭР представлен в таблице 1.

Из таблицы 1 следует, что СЭР состоит из низкомолекулярных веществ, образующих в растворе катионы и анионы. Значения pH раствора составляют 5,5–5,8; осмолярность раствора – 290 мОсм/л. Особенностью этого раствора является то, что по катионно-анионному

Состав солевого энтерального раствора

Наименование катионов и анионов	Количество (в граммах)
Na ⁺	- 11,58
K ⁺	- 4,06
Ca ⁺⁺	- 2,7
Mg ⁺⁺	- 1,25
Cl ⁻	- 18,9
[H ₂ PO ₄] ⁻	- 10,1
[SO ₄] ²⁻	- 5,0
[CH ₃ COO] ⁻	- 6,25
Вода дистиллированная	до 4200

составу и значению рН он идентичен химусу начального отдела тонкой кишки человека, а величина осмотического давления его находится в диапазоне нормальных значений плазмы крови.

Методика кишечного лаважа.

Для профилактики регургитации и аспирации желудочного содержимого перед введением зонда в желудок делали инъекцию 10 мг церукала (метоклопрамида), проводили интубацию трахеи (при нарушении сознания), придавали возвышенное положение верхней половине тела больного, подбирали адекватный темп введения раствора, исключающий переполнение желудка. Раствор, подогретый до 38-40°C, вводили порциями по 150–200 мл через каждые 5 минут. После введения 1,5–2,5 л раствора появлялся жидкий стул, а затем - водянистые выделения без включений (интестинат). В случаях отсутствия стула после введения 2,5 л раствора его однократную дозу уменьшали вдвое, делали клизму тем же раствором в объеме примерно 1,5 л (25–30 мл на 1 кг массы тела). Общий объем раствора, введенного через назогастральный зонд, равнялся 70–80 мл на 1 кг массы тела больного. Продолжительность процедуры составляла 3–4 часа. Стимуляцию пропульсивной функции ЖКТ во время КЛ начинали при появлении клинических признаков наполнения кишечника раствором (умеренное увеличение живота пациента, шум плеска при пальпации живота) по следующей методике [4]:

Серотонина адипинат (СА) 2–4 мл 1% раствора в 400 мл 0,9% раствора натрия хлорида вводили внутривенно со скоростью 60–80 капель в 1 минуту. Скорость введения подбирали индивидуально, ориентируясь на появление гиперемии кожи лица, тахипноэ, тахикардии. При отсутствии эффекта, через 40–60 мин введение СА повторяли. При отравлении amitriptилином СА не вводили.

Количественное определение ПФС в крови пациентов проводили методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) на приборе Кристалл 5000.2 (Россия) с пламенно-ионизационным детектором, а также методом хроматомасс-спектрометрии (ХМС) на приборе Trace GC Ultra с масс-селективным детектором DSQ II (Thermo Scientific, США). Использовали режим программирования температур и детектирование при регистрации в диапазоне масс 50–650 а.е.м. (для подтверждения и идентификации веществ) или в режиме селективного мониторинга характеристических ионов (для повышения чувствительности при определении низких концентраций).

Результаты и обсуждение. До лечения у больных обеих групп были обнаружены высокие уровни токсикантов в крови, соответствовавшие значениям «токсические» и «летальные» [7]. При стимуляции пропульсивной функции кишечника с помощью СА, средняя доза которого составила 42,5±3,3 мг, опорожнение кишечника начиналось через 1,9±0,2 часа с момента начала КЛ. Эффективность СА при отравлениях ПФС, связана с его воздействием непосредственно на серотониновые рецепторы гладкомышечных волокон ЖКТ, вызывающее их сокращения, что способствует разре-

шению пареза [10].

После КЛ состояние больных улучшилось, симптомы интоксикации регрессировали. Положительная клиническая динамика сопровождалась снижением концентрации токсикантов в крови. Однако перепады концентраций отличались по величине, как по токсикантам, так и в группах больных. В таблице 2 представлена динамика концентраций ПФС до и после проведенных методов детоксикации организма в обеих группах больных.

Из таблицы 2 видно, что исходные концентрации ПФС в целом были сопоставимы, кроме amitriptилина, концентрация которого во II группе была выше, чем в I группе. В обеих группах больных наиболее выраженный перепад концентраций наблюдался при отравлении amitriptилином ($p < 0,05$). Меньше и, примерно, на одинаковую величину – при отравлениях лепонексом и финлепсином. Обращает на себя внимание, что во II группе больных перепады концентраций по сравнению с I группой оказались достоверно более выраженными: amitriptилина – на 34,5%, лепонекса – на 20,8%, а финлепсина – на 32,8% ($p < 0,05$).

Детоксикационный эффект КЛ связан с механическим удалением депо токсикантов из полости кишечника. Однако значительная часть массы токсиканта, при этом, остается в слое пристеночной слизи кишечника, которая не растворима в воде, вследствие чего удалить из нее гидрофобные токсиканты с помощью КЛ не удастся [3]. В то же время частицы энтеросорбентов свободно проникают в слой пристеночной слизи кишечника и сорбируют из него токсиканты [9]. Снижение концентрации токсикантов в крови в результате детоксикации энтеральной среды объясняется изменением вектора градиента концентрации на противоположное направление, при котором токсиканты поступают из крови в полость ЖКТ, откуда удаляются естественным путем [6].

Таким образом, при отравлениях ПФС применение КЛ в сочетании с ЭС оказывает более выраженный детоксикационный эффект.

Утверждение, что сочетанное применение ЭС с промыванием кишечника снижает сорбционную емкость энтеросорбентов и менее эффективно, чем только ЭС

Перепад концентраций (мкг/мл) в крови до и после КЛ в I и II группах больных

Токсиканты	I группа (КЛ)		- D%	II группа (КЛ+ЭС)		- D%	- D% (II - I)
	до	после		до	после		
Амитриптилин	0,79±0,1	0,37±0,08	55,38±5,85	1,46±0,49	0,18±0,08	89,9±6,1	34,5
Лепонекс	1,23±0,3	0,87±0,2	44,23±9,75	1,25±0,25	0,46±0,09	65,05±4,8	20,8
Финлепсин	6,18±2,2	3,2±1,2	40,67±12,49	5,77±1,84	1,49±0,39	73,5±5,3	32,8

[11,12,14], объясняется тем, что авторами использовался раствор для ООК, содержащий полиэтиленгликоль, который является высокомолекулярным соединением [16, 17, 15, 8]. Известно, что макромолекулы, занимая центры адсорбции на поверхности сорбентов, могут препятствовать связыванию других веществ, т.е., снижать сорбционную емкость сорбентов по отношению к токсикантам [1, 14]. СЭР состоит из низкомолекулярных химических веществ, которые, как известно, не снижают сорбционную емкость энтеросорбентов [14]. Свидетельством в пользу этого положения является снижение концентрации ПФС в крови при сочетанном применении КЛ и ЭС на 20–30%.

Выводы. 1. КЛ в комбинации с СА способствуют ускоренному продвижению энтеросорбентов по ЖКТ.

2. ЭС повышает эффективность КЛ при отравлениях ПФС, что проявляется в снижении концентрации по-

следних в крови на 20–30%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лужников, Е.А. Клиническая токсикология: Учебник – 3-е изд., перераб. и доп./ Е.А. Лужников. – М.: Медицина, 1999. – 416 с.: ил.
2. Лужников, Е.А. Острые отравления: Руководство для врачей. – 2-е изд., перераб. и доп. / Е.А. Лужников, Л.Г. Костомарова. – М.: Медицина, 2000. – 434 с.
3. Маткевич, В.А. Детоксикация крови портальной системы в комплексном лечении пероральных отравлений. / В.А. Маткевич, Е.А. Лужников, Ю.М. Гальперин. // Фармакология и токсикология. - 1984. - № 5. - С. 93-96.
4. Применение серотонина-адинината при острых пероральных отравлениях. / В.А. Маткевич [и др.] // Анестезиология и реаниматология. -1995. -№ 3. -С. 16– 20.
5. Сочетанное применение кишечного лаважа и энтеросорбции при острых пероральных отравлениях: методические рекомендации / НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского; сост. Е.А. Лужников [и др.].- М., 1990.- 8 с.
6. Толстокишечная детоксикация и метаболическая коррекция: методическое пособие для врачей / СПб МАПО; В.А. Михайлович [и др.].-СПб, 1995.- 19 с.
7. Фаргушний, А.Ф. Смертельные дозы и концентрации некоторых лекарственных веществ в биологических объектах // А.Ф. Фаргушний // Суд.-мед. эксперт. -1999. -№ 5. -С. 16–20.
8. Экстренная медицинская помощь при отравлениях. / Р. Хоффман [и др.]. - М.: Практика. 2010. - С. 119–120.
9. Энтеросорбция. / Под ред. Н.А. Белякова. - Л. 1991.-336 с. с.: ил.
10. Являются ли серотониновые рецепторы «рецепторами жизни»? / А.П.Симонович [и др.]// Вестник РАМН. -1995. -№ 6. -С.27–30.
11. Atta-Politou, J. An in vitro evaluation of fluoxetine adsorption by activated charcoal and desorption upon addition of polyethylene glycol-electrolyte lavage solution. / J. Atta-Politou [et al]. // Clinical Toxicol. -1998. - Vol. 36. - № 1-2. -P. 117–124.
12. Burkhart, K.K. Whole-bowel irrigation as adjunctive treatment for sustained-release theophylline overdose. / K.K. Burkhart, R.C. Wuerz, J.W. Donovan //Ann Emerg Med. -1992. -V. 21. -№ 11. -P.1316–1320.
13. Mayer, A.L. Multiple-dose charcoal and whole-bowel irrigation do not increase clearance of absorbed salicylate./ A.L. Mayer, D.S. Sitar, M. J. Tenenbein. // Arch Intern Med. -1992. -V. 152. -№ 2. -P. 393–396.
14. Roberts, James R. Basic Toxicology: Cathartics and Whole Bowel Irrigation/ James R. Roberts. //Emergency Medicine News: October 2002. - Volume 24 - Issue 10 - P. 31-34.
15. Smith, S.W. Whole-bowel irrigation as a treatment for acute lithium overdose. / S.W. Smith, L.J. Ling, C.E. Halstenson. //Ann Emerg Med. -1991. - V.20. -№ 5. -P.536–539.
16. Tenenbein, M.J. Whole bowel irrigation for toxic ingestions. / M.J. Tenenbein, //J Toxicol Clin Toxicol. -1985. -V. 2-3. -P. 177–184.
17. Tenenbein, M. J. Position Statement: Whole Bowel Irrigation. American Academy of Clinical Toxicology; European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists. / M. J. Tenenbein. // J Toxicol Clin Toxicol. -1997. - V. 35. - № 7. -P. 753–762.

Matkevich V.A., Luzhnikov Ye.A., Rozhkov P.G., Belova M.V.

Joint use of enterosorption and intestinal lavage at acute peroral poisonings by psychopharmacological means

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

A comparative characterization was conducted of the efficiency of intestinal lavage itself and in combination with enterosorption for the body detoxification at acute peroral poisonings by psychopharmacological means. It was shown that the use of a saline enteral solution, which ionic composition is identical to that of the human small intestine chyme, to lavage gastrointestinal tract does not lower sorption properties of enterosorbents if combined. At poisoning by psychopharmacological means, enterosorption in combination with intestinal lavage increases the efficacy of the latter by 20 to 30%.

Материал поступил в редакцию 20.12.2010

УДК 615.099.08

Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений в буккальном эпителии детей на экологически неблагоприятных территориях Брянской области

Корсаков А.В.¹, Трошин В.П.¹, Михалёв В.П.², Жилин А.В.¹, Жилина О.В.¹, Воробьёва Д.А.¹, Короткова, Н.С.¹

¹Брянский патологоанатомический институт
²Брянский государственный университет им. акад. И.Г. Петровского

Представлена сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений у детей (по микроядерному тесту в буккальном эпителии) на экологически неблагоприятных территориях Брянской области с различной плотностью токсического (от 1,7 до 171,6 кг/чел/год по токсическим веществам), радиоактивного (от 10,7 до 504,3 кБк/м² по ¹³⁷Cs) и комбинированного загрязнения среды. Установлены статистически достоверные неблагоприятные изменения в цитогенетическом статусе детей в условиях высокотоксического, ра-

диационно-изолированного и, особенно, радиационно-токсического загрязнения среды, проявляющиеся повышенной частотой двуядерных клеток, клеток с кариопикнозом и кариолизисом.

Ключевые слова: Экологическое неблагоприятие, среднегодовые токсические нагрузки, плотность радиоактивного загрязнения, буккальный эпителий, цитогенетические нарушения, микроядерный тест.

Введение. В последнее десятилетие после промышленного спада производства 90-х годов прошлого столетия вновь обострились проблемы техногенной токсико-химической загрязненности окружающей среды, проявляющиеся на здоровье населения, особенно детей, как наиболее чувствительной группы при воздействии различных ксенобиотиков [10, 11, 13]. Техногенное токсико-химическое загрязнение атмосферного воздуха в настоящее время достигает чрезвычайных размеров: свыше 10 ПДК подвергаются 15% населения в 37 городах РФ, от 5 до 10 ПДК – 52% в 129 городах, до 5 ПДК – 14% в 35 городах и ниже 1 ПДК – 19% населения в 47 городах страны [2]. В городах Брянской области отмечается до 10 ПДК [3, 4]. Так, индекс загрязнения атмосферы (ИЗА), учитывающий несколько примесей токсикантов и характеризующий уровень хронического воздействия в городах Брянской области составляет от 5 до 13 (от 1 до 10 ПДК) [3, 4], что указывает на повышенный и высокий уровень загрязнения атмосферного воздуха.

Состояние современной среды является одной из ведущих причин ухудшения здоровья, прежде всего детского населения страны. По данным Министерства здравоохранения и социального развития РФ общая и первичная заболеваемость детского населения Брянской области за двадцатилетний период (1990-2009 гг.) возросла на 102,0% и 88,1%, РФ – на 77,0% [5]. По данным НИИ гигиены и охраны здоровья детей и подростков научного центра здоровья детей РАМН, за последние 50 лет установлено значительное уменьшение числа детей первой группы здоровья, численность которых в настоящее время составляет 2-4% при существенном увеличении распространенности хронических

заболеваний и морфофункциональных отклонений [1, 16]. Такие явные негативные тенденции в изменении показателей здоровья детей и состояния окружающей среды ставят эту проблему в разряд наиболее приоритетных задач государственной политики [10, 11].

Однако данные, указывающие на причины и закономерности резкого ухудшения состояния здоровья детского населения, определяющие иерархичность (распределение по степени агрессивности) техногенных факторов среды, отсутствуют [6].

Мониторинг радиационной обстановки на юго-западных территориях (ЮЗТ) области показал, что несмотря на прошедшие от момента аварии на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС) 25 лет, радиоактивность по основным долгоживущим радионуклидам (¹³⁷Cs и ⁹⁰Sr) остается высокой и коренного перелома в сторону улучшения пока не наступило, что служит дополнительным дозообразующим фактором, влияющим на состояние здоровья населения [3, 4, 9]. Так, по данным Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Брянской области плотность радиоактивного загрязнения ЮЗТ ¹³⁷Cs в 2008 году снизилась на 30-35% по отношению к маю 1986 г., достигая максимальных значений в с. Заборье Красногорского района (2523,4 кБк/м² или 68,2 кк/км²) [3, 4]. Процессы освобождения и самоочищения почв от долгоживущих радионуклидов идут медленно. Снижение уровня плотности загрязнения почв сельхозугодий ¹³⁷Cs по отношению к маю 1986 г. по области составило всего 1,6 раза, превышение же доаварийного уровня по-прежнему на пашне составляет в 45, аенокосно-пастбищных угодьях – 88 раз [3, 4].

В Брянской области вследствие аварии на ЧАЭС образовалась не встречающаяся на других территориях экологическая среда, уникальная как в плане повышенной радиоактивной загрязненности ЮЗТ области, так и в плане появления территорий новейших, неизвестных ранее (до аварии) комбинированных радиационно-токсических и радиационно-изолированных (экологически благополучных по токсическим компонентам) экосистемных воздействий (при равных дозах радиационных нагрузок на население) [6, 7].

Вместе с тем, несмотря на известность географии распределения радиационных загрязнений Брянской области, исследование последствий Чернобыльской катастрофы по-прежнему рассматривается без учета фоновых техногенно-токсических воздействий, их интенсивности и неизбежных в таких ситуациях роста заболеваемости населения, особенно детей – критического звена при воздействии различных ксенобиотиков [6, 7].

Изучение цитогенетического статуса детей, проживающих в таких условиях, представляется крайне важным и необходимым для прогнозирования эффективности вкладов техногенно-токсических факторов среды в частоту цитогенетических нарушений на радиоактивно-загрязненных территориях, пострадавших вследствие аварии на ЧАЭС. Частота цитогенетических нарушений (микроядер, деструкции ядра и повышенной пролиферации) в буккальном эпителии у детей, проживающих при такой многофакторной загрязненности среды, не исследована и является основным вопросом настоящей статьи.

Материалы и методы исследования. Была проведена сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7-9 лет, проживающих на экологически благополучных (контрольных), радиационных (вследствие аварии на ЧАЭС), высокотоксических (вследствие накопления промышленных выбросов) и комбинированных радиационно-токсических территориях Брянской области. Исследования цитогенетического статуса детей 7-9 лет проводились на основе метода анализа микроядер и аномалий ядра в эксфолиативных клетках человека, предложенного Stich et al [17]. У 242 детей 7-9 лет (из них 123 мальчика и 119 девочек) проводился забор буккального эпителия. В п.г.т. Клетня обследовано 59 детей (26 мальчиков и 33 девочки), в с. Творишено – 42 ребенка (21 мальчик и 21 девочка), г. Новозыбкове – 72 ребенка (39 мальчиков и 33 девочки) и г. Дятьково – 69 детей (37 мальчиков и 32 девочки). От каждого ребенка изучались от 500 до 1500 клеток, затем производился пересчет на 1000 клеток (окончательный результат выражен в промиллях, ‰). Всего нами проанализировано 237 000 клеток.

На стеклах с буккальным эпителием детей 7-9 лет с помощью электронного микроскопа Nikon подсчитывались: клетки с микроядрами (КМЯ),

двуядерные клетки (ДК), клетки с более чем двумя ядрами (КЯ>2), клетки с двойным ядром (ДЯ), протрузии разных форм (ПРФ), клетки с кариопикнозом (КП), кариорексисом (КР) и кариолизисом (КЛ). Перечисленные показатели оценивались как ведущие признаки нарушения цитогенетического статуса.

Мазки буккального эпителия фиксировались на воздухе. Препараты окрашивались по Лейшману (смесь азура 1, метиленового синего и желтого водорастворимого эозина). Высушенный на воздухе мазок фиксировали 3-4 минуты. Фиксатор сливали, мазок на предметном стекле промывали проточной водопроводной водой при pH 6,5-7,0, т.к. использование воды другой реакции может привести к плохой, нежелательной, а в ряде случаев и непригодной для цитологического исследования окраске препаратов. Приготовление фиксатора Лейшмана: 2,5 грамма сухого порошка краски Лейшмана растворяли в 1 л метилового спирта и оставляли на 3 дня в сосуде с притертой пробкой, периодически помешивали. Через 3 дня раствор профильтровывали и помещали в другой сосуд. Раствор стоек.

Показатели величин валовых газообразных промышленных выбросов летучих органических соединений (ЛОС) с входящими в их состав бенз(а)пирена, бензола, формальдегида, фенола и др., оксидов азота, диоксида серы, оксида углерода, в атмосферу (тонн в год) нами изучены по материалам паспортизации всех предприятий Брянской области за десятилетний период, выполняющих проект предельно допустимых выбросов (2000-2009 гг.) [15]. Последующий расчет показателей степени загрязненности отдельных районов по мощности суммарных газообразных выбросов, тонн в год данного токсиканта в данном районе Брянской области проводился путем пересчета величин среднегодового выброса на отдельного жителя данного района (кг/чел/год) [8].

Для установления величин плотности радиоактивного загрязнения по ¹³⁷Cs нами использовались данные справочника [14], дополненные в учебном пособии “Радиационная экология” по нерадиационным районам Брянской области [12].

Нами выделены следующие территории Брянской области по уровню токсического, радиоактивного и комбинированного загрязнения среды (табл. 1): 1) п.г.т. Клетня – малая плотность радиоактивного и токсического загрязнения (экологически благополучный), 2) с. Творишино – высокая плотность радиоактивного при низком уровне токсического загрязнения (радиационно-изолированный), 3) г. Дятьково – малая плотность радиоактивного при максимально высоком уровне токсического загрязнения (высокотоксический), 4) г. Новозыбков – высокая плотность радиоактивного и токсического загрязнения (комбинированный радиационно-токсический).

Среднегодовые токсические нагрузки на отдельного жителя рассматриваемых районов и плот-

ность радиоактивного загрязнения по цезию-137 представлены в табл. 1.

Таблица 1

Загрязненность районов Брянской области по уровню токсического, радиоактивного и комбинированного загрязнения окружающей среды

Варианты воздействий факторов экологического неблагополучия среды	Экологическое благополучие (Клетня)	Высокое токсическое загрязнение (Дятьково)	Радиационно-изолированное загрязнение (Творищино)	Радиационно-токсическое загрязнение (Новозыбков)
Среднегодовые суммарные токсические нагрузки на жителя по газообразным токсикантам (2000-2009 гг.), кг/чел/год Из них:	1,7	171,6	2,7	26,2
ЛОС	0,1	6,3	0,2	5,3
NO _x	0,6	59,9	1,3	8,4
SO ₂	0,5	36,3	0,0	4,1
CO	0,5	68,6	1,1	8,4
Плотность радиоактивного загрязнения среды по ¹³⁷ Cs, (2001 г.), кБк/м ²	10,73 (0,29) ¹	29,60 (0,80) ¹	383,3 (10,36) ¹	504,30 (13,65) ¹

¹Значения в кБк/км²

Статистический анализ полученных данных проводился нами с использованием средств пакета Microsoft Excel. В качестве среднего значения везде фигурирует выборочное среднее, так как выборочные данные обладают очевидной симметрией. При описании разброса данных используется ошибка средней арифметической. Для проверки статистической гипотезы о значимости отклонения того или иного показателя нами применялся традиционный в медико-биологических исследованиях t-критерий Стьюдента, используемый для нормального распределения непрерывных переменных. Для оценки достоверности данных нами использовались разные уровни статистической значимости различий: 0,05, 0,01, 0,001.

Результаты исследования и их обсуждение. Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7-9 лет, проживающих в условиях экологического благополучия, высокотоксического, радиационно-изолированного и радиационно-токсического загрязнения среды выявила

однотипные факторзависимые реакции на исследуемые техногенные воздействия, указывая, что наибольшие статистически достоверные ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$) неблагоприятные изменения цитогенетического статуса регистрируются у мальчиков и девочек, проживающих в г. Новозыбкове, указывая на дополнительное влияние фоновых техногенно-токсических метаболитов в частоту цитогенетических нарушений у детей в условиях радиоактивного загрязнения среды вследствие аварии на ЧАЭС (табл. 2).

У детей высокотоксических, радиационно-изолированных и, особенно, экологически благополучных территорий неблагоприятных изменений в цитогенетическом статусе значительно меньше или вообще не выявлено (табл. 2).

Так, у мальчиков и девочек г. Новозыбкова число ДК, клеток с КП и КЛ достигает максимальных значений, составляя $12,84 \pm 1,37$; $11,66 \pm 2,21$ и $28,58 \pm 3,21\%$, что больше показателей экологически благополучных, высокотоксических и радиационно-изолированных территорий в 1,9; 1,3 и 1,4 раза по ДК, в 6,5; 2,0 и 2,8 раза по КП и в 4,0; 2,7 и 3,1 раза по КЛ (табл. 2). Частота

Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7-9 лет, проживающих в условиях экологического благополучия, высокотоксического, радиационно-изолированного и радиационно-токсического загрязнения среды (на 1000 клеток, ‰)

Цитогенетические показатели, ‰	Экологическое благополучие (п.г.т. Клетня), n=59	Высокое токсическое загрязнение (г. Дятьково), n=69	Радиационно-изолированное загрязнение (с. Творишино), n=42	Радиационно-токсическое загрязнение (г. Новозыбков), n=72
Цитогенетические нарушения				
КМЯ	0,02±0,02	1,47±0,67	0,18±0,08	0,04±0,03
ПРФ	0,04±0,03	0,31±0,09	0,29±0,12	0,13±0,06
Показатели пролиферации				
ДК	6,84±0,79	9,60±1,20	9,37±1,26	12,84±1,37
КЯ>2	0,15±0,06	0,16±0,06	0,08±0,04	0,23±0,09
ДЯ	0,04±0,04	0,36±0,09	0,76±0,29	0,12±0,07
Показатели деструкции ядра				
КП	1,79±0,37	5,73±1,05	4,19±0,67	11,66±2,21
КР	0,15±0,08	0,27±0,14	0,12±0,06	0,74±0,31
КЛ	7,08±1,98	10,51±1,39	9,19±1,54	28,58±3,21

Примечание: ДК – двуядерные клетки; КЯ>2 – клетки с более чем двумя ядрами; ДЯ – двойное ядро; КМЯ – клетки с микроядрами; ПРФ – протрузии разных форм; КП – кариопикноз; КР – кариорексис; КЛ – карлиозис.

Различия статистически достоверны p<0,001¹

Различия статистически достоверны p<0,01²

Различия статистически достоверны p<0,05³

Различия статистически недостоверны p>0,05⁴

¹ Сравнивалась частота ДК в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове; клеток с ДЯ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково; клеток с КП в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове; клеток с КЛ в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове.

² Сравнивалась частота клеток с ПРФ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково; клеток с КП в п.г.т. Клетня и с. Творишино.

³ Сравнивалась частота КМЯ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, с. Творишино и г. Дятьково, г. Новозыбкове и г. Дятьково; клеток с ПРФ в п.г.т. Клетня и с. Творишино; ДК в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове; клеток с ДЯ в п.г.т. Клетня и с. Творишино, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове; клеток с КР в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове.

⁴ Сравнивалась частота КМЯ в п.г.т. Клетня и с. Творишино, п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Новозыбкове и с. Творишино; клеток с ПРФ в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и с. Творишино, г. Дятьково и г. Новозыбкове, г. Новозыбкове и с. Творишино; ДК в п.г.т. Клетня и с. Творишино, г. Дятьково и с. Творишино; КЯ>2 между всеми районами; клеток с ДЯ в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и с. Творишино; клеток с КП в г. Дятьково и с. Творишино; клеток с КР в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, п.г.т. Клетня и с. Творишино, г. Дятьково и с. Творишино, г. Дятьково и г. Новозыбкове; клеток с КЛ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, п.г.т. Клетня и с. Творишино, г. Дятьково и с. Творишино.

КМЯ, клеток с ПРФ, КЯ>2, клеток с ДЯ и клеток с КР, как и в других районах, составляет малые величины, достигая максимальных значений по КР (0,74±0,31‰). Регистрируются статистически достоверные различия частоты ДК в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове (p<0,001), г. Дятьково и г.

Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове (p<0,05); клеток с КП в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове (p<0,001); клеток с КЛ в п.г.т. Клетня и г. Новозыбкове, г. Дятьково и г. Новозыбкове, с. Творишино и г. Новозыбкове.

($p < 0,001$) – табл. 2.

Анализ частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии детей, проживающих в п.г.т. Клетня, показывает, что число КМЯ, клеток с ПРФ, КЯ >2 , клеток с ДЯ и клеток с КР составляет от 0,0 до 0,15 \pm 0,06%, а число ДК, клеток с КП и КЛ – 6,84 \pm 0,79; 1,79 \pm 0,37 и 7,08 \pm 1,98%, что меньше показателей г. Дятьково, с. Творишино и г. Новозыбкова в 1,4; 1,4 и 1,9 раза по ДК, 3,2; 2,3 и 6,5 раза по КП и в 1,5; 1,3 и 4,0 раза по КЛ (табл. 2). Такие цитогенетические показатели указывают на экосистемную стабильность среды и ее экологическое благополучие. Регистрируются статистически достоверные различия частоты ДК в п.г.т. Клетня и г. Дятьково ($p < 0,05$); клеток с КП в п.г.т. Клетня и г. Дятьково ($p < 0,001$), п.г.т. Клетня и с. Творишино ($p < 0,01$) – табл. 2.

Аналогичный анализ у мальчиков и девочек г. Дятьково показывает, что число КМЯ составляет 1,47 \pm 0,67%, в то время как в п.г.т. Клетня, с. Творишино и г. Новозыбкове – 0,02 \pm 0,02; 0,18 \pm 0,08 и 0,04 \pm 0,03%, указывая на наибольшую частоту формирования КМЯ по сравнению с экологически благополучными, радиационно-изолированными и радиационно-токсическими территориями. Вместе с тем, средний уровень МЯ в норме для населения считается от 1 до 3%, поэтому число КМЯ у детей г. Дятьково равно 1,47 \pm 0,67% не может рассматриваться как повышенное. Число клеток с ПРФ, КЯ >2 , клеток с ДЯ и клеток с КР составляет от 0,0 до 0,36 \pm 0,09%, незначительно превышая показатели в п.г.т. Клетня, а число ДК, клеток с КП и КЛ – 9,60 \pm 1,20; 5,73 \pm 1,05 и 10,51 \pm 1,39%, что больше показателей п.г.т. Клетня в 1,4; 3,2 и 1,5 раза, указывая на негативное влияние токсико-химических веществ на цитогенетический статус детей (табл. 2). Регистрируются статистически достоверные различия частоты КМЯ в п.г.т. Клетня и г. Дятьково, с. Творишино и г. Дятьково, г. Новозыбкове и г. Дятьково ($p < 0,05$) – табл. 2.

Анализ частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии детей с. Творишино показывает, что число КМЯ, клеток с ПРФ, КЯ >2 , клеток с ДЯ и клеток с КР составляет малые величины, достигая максимальных значений по ДЯ (0,76 \pm 0,29%), а число ДК, клеток с КП и КЛ – практически повторяют показатели г. Дятьково при статистически недостоверных различиях ($p > 0,05$), составляя 9,37 \pm 1,26; 4,19 \pm 0,67 и 9,19 \pm 1,54%, указывая на негативное влияние радиационно-изолированного загрязнения среды на цитогенетический статус мальчиков и девочек, а также на однонаправленный характер частоты цитогенетических нарушений на токсико-химические и радиоактивные метаболиты современной урбанизированной среды (табл. 2).

Следует отметить, что статистически досто-

верные различия в исследуемых цитогенетических показателях между мальчиками и девочками одних и тех же районов практически не регистрируются (кроме числа клеток с КП в г. Новозыбкове, составляя 15,00 \pm 4,05% у мальчиков и 8,32 \pm 1,59% у девочек, $p < 0,05$).

Выводы.

1. Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии мальчиков и девочек 7-9 лет выявила наибольшие статистически достоверные ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$) неблагоприятные изменения цитогенетического статуса у детей, проживающих в г. Новозыбкове, проявляющиеся повышенной частотой ДК, клеток с КП и КЛ, превышая показатели экологически благополучных, высокотоксических и радиационно-изолированных территорий в 1,9; 1,3 и 1,4 раза по ДК, в 6,5; 2,0 и 2,8 раза по КП и в 4,0; 2,7 и 3,1 раза по КЛ, что указывает на дополнительное влияние фоновых техногенно-токсических метаболитов в частоту цитогенетических нарушений у детей в условиях радиоактивного загрязнения среды вследствие аварии на ЧАЭС.

2. Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии детей 7-9 лет с. Творишино показывает, что число ДК, клеток с КП и КЛ практически повторяют показатели г. Дятьково при статистически недостоверных различиях ($p > 0,05$), указывая на негативное влияние радиационно-изолированного загрязнения среды на цитогенетический статус мальчиков и девочек, а также на однонаправленный характер частоты цитогенетических нарушений на токсико-химические и радиоактивные метаболиты современной урбанизированной среды.

3. Сравнительная оценка частоты цитогенетических нарушений, показателей пролиферации и деструкции ядра в буккальном эпителии детей 7-9 лет п.г.т. Клетня, показывает, что число ДК, клеток с КП и КЛ меньше показателей г. Дятьково, с. Творишино и г. Новозыбкова в 1,4; 1,4 и 1,9 раза по ДК, 3,2; 2,3 и 6,5 раза по КП и в 1,5; 1,3 и 4,0 раза по КЛ, указывая на экосистемную стабильность среды и ее экологическое благополучие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов, А.А. Состояние здоровья современных детей и подростков и роль медико-социальных факторов в его формировании / А.А. Баранов, В.Р. Кучма, Л.М. Сухарева // Вестник РАМН. – 2009. – №5. – С. 6-10.
2. Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды в Российской Федерации в 2008 г. / Мин-во природ. ресурсов и экологии Рос. Федерации. – М.: 2009. – 488 с.
3. Государственный доклад «Санитарно-эпидемиологическая обстановка в Брянской области в 2009 году» / Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Брянской области, гл. ред. П.А. Степаненко. – Брянск, 2010. – 109 с.
4. Государственный доклад «О состоянии окружающей природной среды Брянской области в 2008 году» / Комитет природопользования и охраны окружающей среды, лицензирования отдельных видов деятельности Брянской области; сост.: С.А. Ахременко, А.В. Горюхов, Г.В. Левкина, О.А. Фильченкова, А.И. Сахаров. – Брянск, 2009. – 306 с.
5. Ермилова, Е.А. Общая и первичная заболеваемость детского, подросткового и взрослого населения Брянской области и Российской Федерации с 1990 по 2009 гг. / Е.А. Ермилова // Материалы медицинского информационно-аналитического центра при Департаменте здравоохранения Брянской области (рукопись). – Брянск, 2010. – 26 с.
6. Корсаков, А.В. Комплексная эколого-гигиеническая оценка состояния окружающей среды как фактора риска для здоровья / А.В. Корсаков, В.П. Михалев // Проблемы региональной экологии. – 2010. – №2. – С. 172-181.
7. Михалев, В.П. Гигиеническая оценка радиоактивной загрязненности окружающей среды / В.П. Михалев, В.Л. Адамович // Гигиена и санитария. – 1997. – №3. – С. 36-41.
8. Муратова, Н.А. Численность населения Брянской области с 2000 по 2009 гг. / Н.А. Муратова // Материалы Федеральной службы государственной статистики по Брянской области (рукопись). – Брянск, 2010. – 15 с.
9. Онищенко, Г.Г. Радиологические и медицинские последствия аварии на Чернобыльской АЭС в Российской Федерации / Г.Г. Онищенко // Гигиена и санитария. – 2007. – №4. – С. 6-13.
10. Онищенко, Г.Г. Городская среда и здоровье человека / Г.Г. Онищенко // Гигиена и санитария. – 2007. – №5. – С. 3-5.
11. Онищенко, Г.Г. Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации / Г.Г. Онищенко // Гигиена и санитария. – 2008. – №2. – С. 4-15.
12. Пивоваров, Ю.П. Радиационная экология: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Ю.П. Пивоваров, В.П. Михалев. – М.: Академия, 2004. – 240 с.
13. Рахманин, Ю.А. Актуальные проблемы комплексной гигиенической характеристики факторов городской среды и их воздействия на здоровье населения / Ю.А. Рахманин, С.И. Иванов, С.М. Новиков [и др.] // Гигиена и санитария. – 2007. – №5. – С. 5-8.
14. Средние накопленные за 1986-2001 гг. эффективные дозы облучения (включая дозы облучения щитовидной железы) жителей населенных пунктов Брянской, Калужской, Липецкой, Орловской, Рязанской и Тульской областей Российской Федерации, отнесенных к зонам радиоактивного загрязнения по постановлению Правительства Российской Федерации № 1582 от 18 декабря 1997 года «Об утверждении Перечня населенных пунктов, находящихся в границах зон радиоактивного загрязнения вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС» (справочник) / под. ред. Г.Я. Брука. – М.: Министерство здравоохранения РФ, 2002. – 206 с. (издание официальное).
15. Степаненко, П.А. Выбросы наиболее распространенных загрязняющих атмосферу веществ, отходящих от стационарных источников в Брянской области в 1999-2009 гг. (согласно отчетам ПП-1 воздух) / П.А. Степаненко // Материалы Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (рукопись). – Брянск, 2010. – 20 с.
16. Сухарева, Л.М. Особенности заболеваемости московских школьников за последние 50 лет / Л.М. Сухарева, И.К. Рапопорт, Л.Ф. Бережков [и др.] // Гигиена и санитария. – 2009. – №2. – С. 21-26.
17. Stich, H.F. Elevated frequency of micronucleated cells in the buccal mucosa of individuals / H.F. Stich, V. Stich, B.B. Parida // Cancer Lett. – 1981. – 17. – №2. – P. 125-134.

Korsakov A.V.¹, Troshin V.P.¹, Mikhalyov V.P.², Zhilin A.V.¹, Zhilina O.V.¹, Vorobyova D.A.¹, Korotkova N.S.¹

Comparative evaluation of the cytogenetic disorders incidence in the buccal epithelium in children on ecologically adverse territories of the Bryansk region

¹Bryansk Anatomico-pathological Institute
²I.G.Petrov State University of Bryansk

The article presents a comparative evaluation of the incidence of cytogenetic disorders in children (based on micronucleas testing in the buccal epithelium) in the Bryansk region ecologically unfavorable territories with a different density of the toxic (from 1.7 to 171.6 kg/head /year for toxicological substances), radioactive (from 10.7 to 504.3 kBc/m² as ¹³⁷Cs) and combined pollution of the environment. Statistically authentic advers changes in the cytogenetic status in children were established under conditions of a high-toxic, confined -radiation and especially toxic-radiation pollution of the environment which manifested in an increased frequency of binucleated cells and cells with karyopyknosis and karyolysis.

Материал поступил в редакцию 03.09.2011 г.

УДК 546.49-616.092

Депонирование ртути в крови крысы и человека

На основе экспериментальных и клинических данных изучено распределение ртути между эритроцитами и плазмой в крови крысы и человека. Обосновывается значение верхнего референтного предела концентрации

ртути в цельной крови человека – 7 мкг/дм³.

Ключевые слова: ртуть, кровь человека и крысы, эритроциты, плазма

Малов А.М., Сибираков В.К., Семенов Е.В, Колбасова Е.Н.

ФГУН «Институт токсикологии»
ФМБА России, Санкт-Петербург

Введение. Ртуть и ее соединения относятся к I- му классу опасности [1], но, несмотря на это, они все еще широко используются в различных сферах деятельности человека [2]. По данным сотрудников ФГУН СЗНЦ гигиены и общественного здоровья ртутное загрязнение обнаружено в 50% школьных и 30% дошкольных учреждениях Санкт-Петербурга [3]. По данным этих же иссле-

дователей в 1999 - 2006 годах в Санкт-Петербурге зарегистрировано 2176 инцидентов с разливом ртути. «Токсическое действие ртути» (по Международной классификации болезней - МКБ) - нередкий диагноз врачей-токсикологов в наши дни, еще чаще они сталкиваются с меркуриализмом (mercurialismus), как хроническим отравлением ртутью и ее соединениями, характеризующимся

нарушением деятельности ЦНС, пищеварительного аппарата, дерматитами и т.д. [4].

Независимо от пути поступления в организм (перорально, перкутанно, ингаляционно) ртуть в виде тех или иных соединений оказывается в крови. Например, при ингаляционном поступлении паров ртути до 80% ртути превращается в органические соединения и поступает в кровь [5]. Достаточно активно соединения ртути, особенно органические формы метил-, этил- и фенилртути, всасываются в желудочно-кишечном тракте [6].

Кровь является внутренней средой организма, от ее состава зависит функционирование многих систем животного и человека, благодаря ей происходит обмен гуморальными факторами, доставка и распределение субстратов и метаболитов к органам и тканям. Именно кровь опосредует процесс выведения и поступления токсикантов в организм и доставку ксенобиотиков к органам-мишеням. С этих позиций количественные и качественные характеристики процесса накопления ртути кровью представляются достаточно важными для понимания процесса аккумуляции экотоксиканта организмом.

При обследовании пациентов и постановке соответствующего диагноза данные анализа крови на содержание в ней ртути играют важную, если не исключительную роль [7].

В обзорах и справочных изданиях, как правило, сообщаются т.н. «референтные значения» содержания ртути в цельной крови [8, 9], и гораздо реже – в ее компонентах, т.е. в плазме и форменных элементах [10]. Диапазон этих значений для человека простирается от 1.6 мкг/дм³ (9), до 50.0 мкг/дм³ [10]. Практически отсутствуют документы, нормирующие содержание ртути в человеческой крови. Исключением, пожалуй, может быть указание [11, 12] на то, что в крови профессионально занятого населения не должно быть ртути более 10.0 мкг/дм³. В чем едины практически все исследователи, так это в том, что ртуть неравномерно распределяется между плазмой и форменными элементами крови, и что в эритроцитах содержится около 90% всей ртути находящейся в крови [8, 10].

Задачей настоящего исследования явилось изучение дозо-зависимого накопления ртути в компонентах крови крыс, а также ее распределения между эритроцитами и плазмой в крови крыс и человека.

Материалы и методы исследования. С целью получения крови с различным содержанием ртути белым нелинейным крысам (питомник «Рапполово») массой от 170 до 225 г в течение 30 суток перорально, с питьевой водой вводили растворы нитрата - $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ или ацетата - $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ртути. Процесс затравки крыс подробно описан в работе [13]. Исследования проводили в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н)..

Ацетат ртути (АР) вводили трем группам животных в суточных дозах - 0.06, 0.30 и 0.60 мг/кг (по ртути), а нитрат ртути (НР) четырем группам в суточных дозах - 0.06, 0.30, 0.60 и 1.80 мг/кг (по ртути).

Цельная кровь от 3 - 7-ми животных для каждой группы была проанализирована отдельно, полученные данные были подвергнуты статистической обработке с помощью программы «Биостат» [14]. Определение ртути в крови и ее компонентах производили методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии [15] на усовершенствованном ртутном анализаторе «Юлия-2», соответствующие процедуры описаны в работе в Методических указаниях [16]. Пробоподготовка образцов крови выполнена согласно рекомендациям и указаниями для соответствующего вида материалов [17].

Образцы крови человека были получены из консультативно-диагностической поликлиники ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России при обследовании пациентов на носительство ртути; забор крови осуществлялся в соответствии с нормативами, принятыми для лечебно-профилактических учреждений России.

Разделение крови на плазму и форменные элементы (эритроциты) производили по общепринятым методикам путем центрифугирования [18].

Результаты исследований и обсуждение. Эксперименты по затравке крыс АР или НР выполнены на двух группах животных, поступивших из питомника в разное время, вследствие чего они имели различные исходные концентрации ртути в крови, обусловленные, по-видимому, несколько неодинаковыми условиями содержания, скорее всего различным составом корма. Чтобы иметь возможность сопоставить эксперименты с АР и НР, в настоящей работе приводятся дозо-зависимые изменения концентрации ртути в крови в относительных единицах (в % от содержания ртути в крови контрольных животных), которые были соответственно 17.2 ± 1.42 мкг/дм³ и 27.9 ± 2.40 мкг/дм³ ртути в цельной крови. На рис. 1 представлены в графической форме данные о содержании ртути в крови крыс при затравке различными дозами АР и НР.

При введении НР в исследованном диапазоне доз наблюдается прямая линейная зависимость между концентрацией ртути в крови и затравочной дозой, которая хорошо описывается линейным уравнением. При затравке АР имеет место иной характер зависимости, уже при дозе 0.3 мг/кг наступает насыщение крови ртутью и увеличение дозы АР до 0.6 мг/кг практически не повышает содержание ртути в крови. Причину этих отличий, по-видимому, следует искать в различии анионной части использованных для затравки солей. АР менее растворим, хуже диссоциирует, как соль более слабой кислоты, и это замедляет или уменьшает всасывание этой соли ртути в кишечнике. Несмотря на то, что АР более липофилен чем НР, в дан-

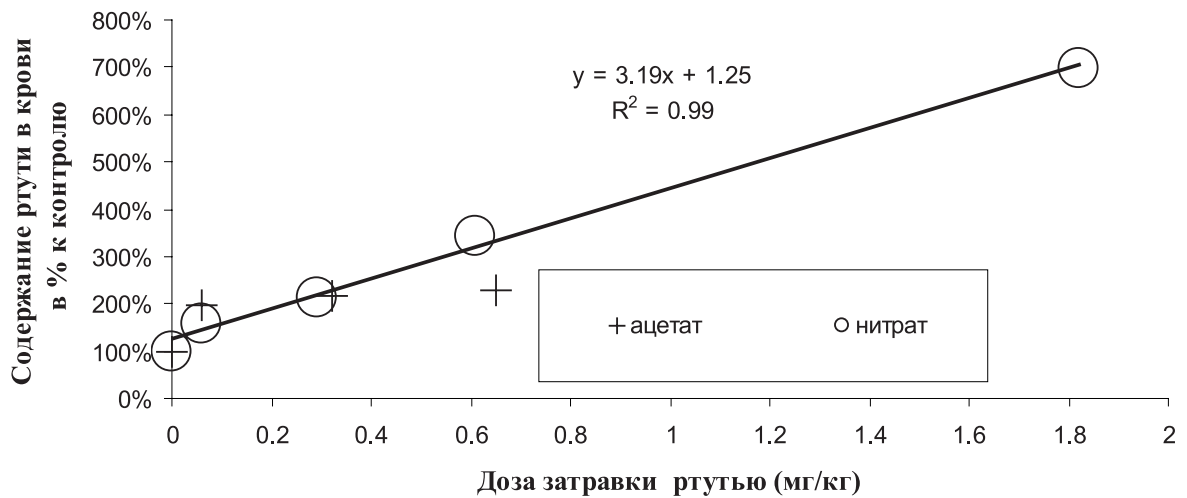


Рис.1. Дозо-зависимое поступление ртути в кровь крыс при заправке АР и НР.

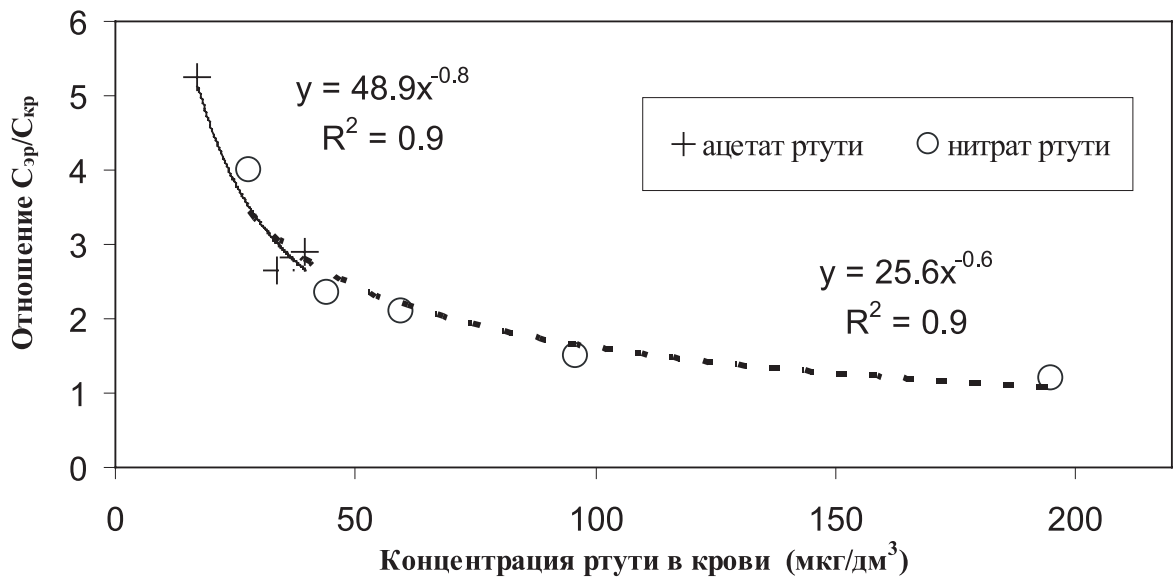


Рис. 2. Изменение отношения C_{эp}/C_{кр} в зависимости от концентрации ртути в цельной крови у крыс

ном случае это свойство не играет роли. В пользу этих представлений свидетельствуют сравнительные данные об острой токсичности АР и НР [9]; при пероральном введении НР оказывается в два раза более токсичным для крыс, чем АР.

Известно, что ртуть накапливается преимущественно в эритроцитах [7, 8, 10], но объемы и характер этого накопления оставались неясными. Нами было произведено раздельное определение содержания ртути в цельной крови, в эритроцитах и плазме. Было обнаружено, что аккумуляция ртути в крови происходит за счет связывания ртути в эритроцитах, но с увеличением нагрузки ртутью постепенно значение этого фактора снижается и все большая доля токсиканта оказывается в плазме. Наиболее ярко это проявляется в изменении отношения концентрации эритроцитарной ртути - C_{эp} (в мкг/дм³) к концентрации ртути в цельной крови - C_{кр} (в мкг/дм³) т.е. C_{эp}/C_{кр}. Изменение ве-

личины этого отношения в зависимости от концентрации ртути в цельной крови представлено на рис. 2. Независимо от вида соединения ртути, использованного для заправки крыс, характер перераспределения ртути между плазмой и эритроцитами принципиально не отличается. Снижение доли эритроцитарной ртути в обоих случаях достаточно хорошо описывается степенной функцией.

Снижение доли эритроцитарной ртути подтверждается данными, полученными при сравнительном анализе содержания ртути в эритроцитах и плазме крови при заправке животных АР (Рис. 3.).

Видно, что немногим более чем двукратное увеличение содержания ртути в цельной крови ощутимо изменяет соотношение содержания ртути между эритроцитами и плазмой, доля ртути в плазме при этом увеличивается также примерно

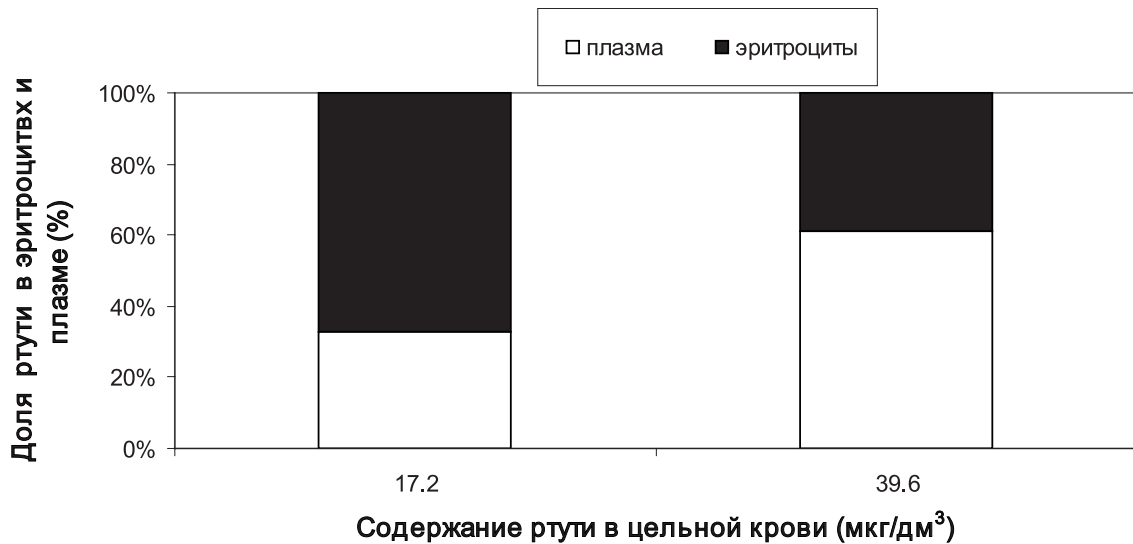


Рис. 3. Изменение доли ртути в эритроцитах и плазме крови крыс в зависимости от концентрации ртути в цельной крови.

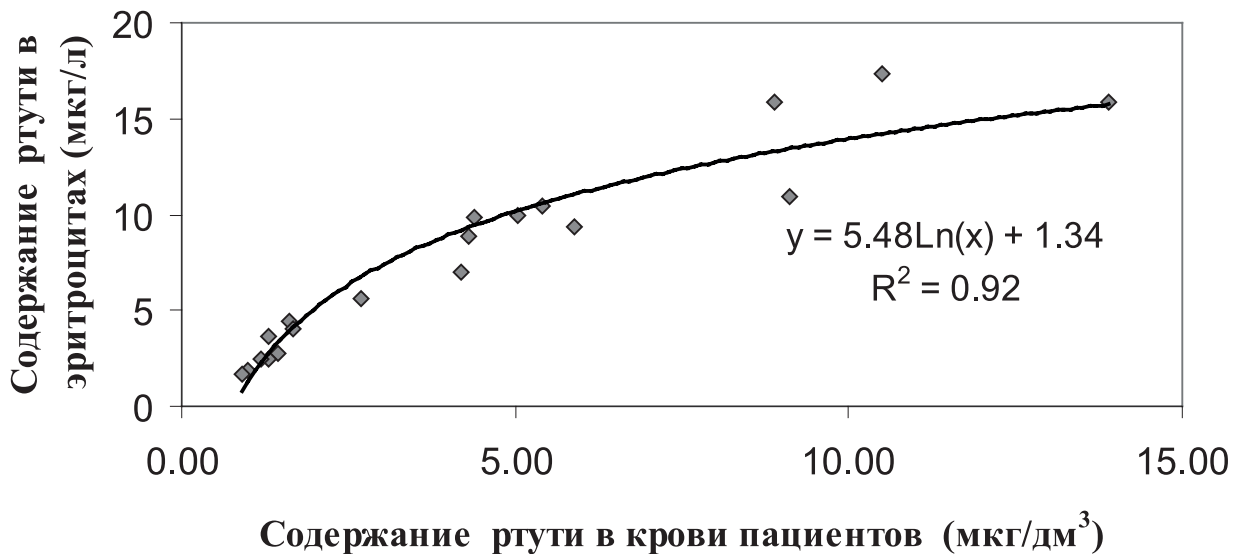


Рис. 4. Изменение содержания ртути в эритроцитах при увеличении ее концентрации в цельной крови пациентов.

в 2 раза.

Изменение содержания ртути в плазме крови крыс в зависимости от концентрации ртути в цельной крови можно описать уравнением $y=0.40x^2-20.24x+266.7$ ($R^2=0.74$). Если это выражение дифференцировать и результат приравнять «1», то можно вычислить концентрацию ртути в крови, при которой она начнет выходить в плазму; эта величина для крови крыс составляет 24 мкг/дм³.

При обследовании пациентов консультативно-диагностической поликлиники ФГУН «Института токсикологии» ФМБА России была выделена группа людей с установленным носительством ртути. Цельная кровь этих пациентов была соответствующим образом проанализирована на содержание ртути, так же как ее плазматическая часть и форменные элементы.

На рис. 4 представлено изменение содержания ртути в эритроцитах пациентов в зависимости от

ее содержания в цельной крови.

Видно, что концентрация ртути в эритроцитах пациентов увеличивается до определенного предела с ростом общей концентрации этого металла в крови. Логарифмическая зависимость $y = 5.48\ln(x) + 1.34$ достаточно хорошо ($R^2 = 0.92$) описывает этот процесс. Если это выражение продифференцировать, то получим выражение вида $dy/dx = 5.48/x$. Эта формула есть ни что иное, как отражение динамики накопления ртути эритроцитами с увеличением концентрации ртути в цельной крови; она интересна тем, что позволяет объективно оценить точку перелома в динамике накопления ртути эритроцитами. Если производную этого выражения приравнять к «1», то можно рассчитать точку перелома, т.е. концентрацию ртути в цельной крови при которой ртуть начинает в меньшей мере накапливаться в эритроцитах, а в большей мере - в плазме. Путем несложных расчетов получаем концентра-

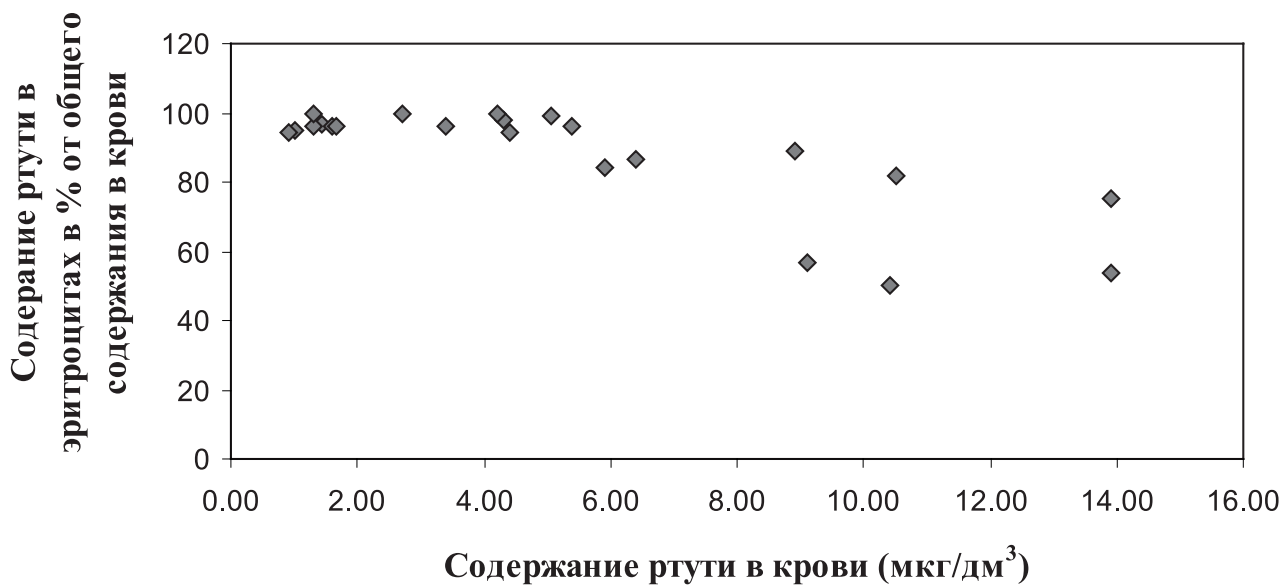


Рис. 5. Изменение доли эритроцитарной ртути (в %) в зависимости от общего содержания ртути в цельной крови человека.

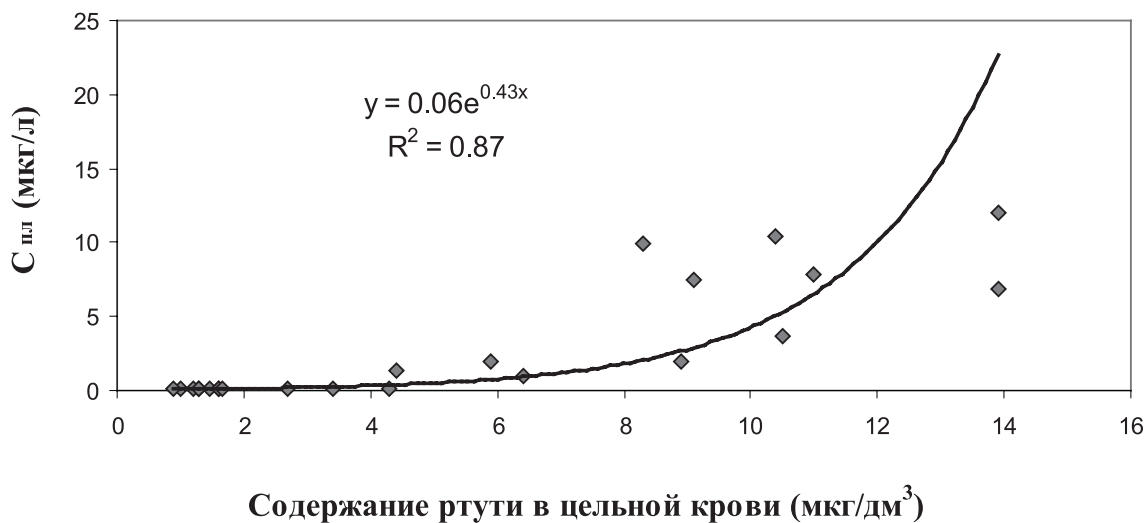


Рис. 6. Зависимость содержания ртути в плазме (Спл) от содержания ртути в цельной крови пациентов.

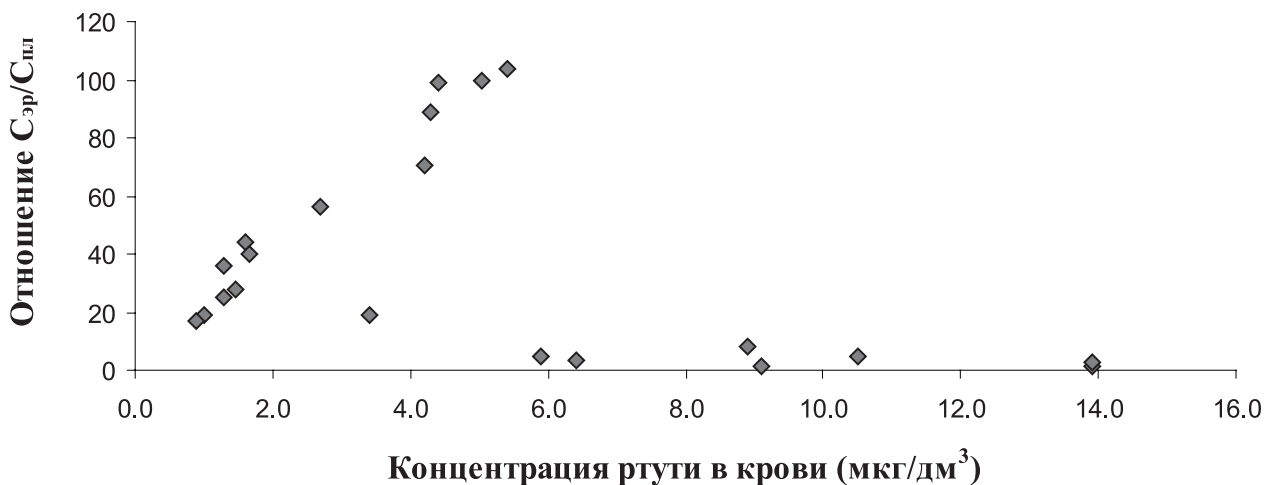


Рис. 7. Изменение отношения Сэр/Спл в зависимости от концентрации ртути в цельной крови пациентов.

цию ртути в цельной крови равную 5.5 мкг/дм^3 , это своего рода критическая концентрация. При содержании ртути в крови пациентов ниже этого значения эритроциты аккумулируют ртуть, выше - ртуть преимущественно накапливается в плазме.

Не менее наглядно этот процесс отражен в несколько иной форме на рис. 5, где представлено изменение доли (%) эритроцитарной ртути в крови человека в зависимости от общего содержания ртути в цельной крови - $C_{\text{кр}}$. В диапазоне от 5 до 7 мкг/дм^3 наступает перелом в долевого распределения ртути между эритроцитами и плазмой крови человека.

Экспериментальные данные, выраженные в абсолютных величинах, показывают, что действительно с ростом концентрации ртути в цельной крови - $C_{\text{кр}}$ все большая ее доля оказывается в плазме $C_{\text{пл}}$ - рис. 6.

Экспоненциальная зависимость $y = 0.06e^{0.43x}$ достаточно точно описывает процесс накопления ртути плазмой ($R^2 = 0.87$). После дифференцирования и приравнивания полученного выражения к «1», получается концентрация ртути в цельной крови, при которой начинается обогащение плазмы ртутью. Расчеты показывают, что эта концентрация равна 6.6 мкг/дм^3 . Учитывая ошибку эксперимента - 20% и не очень большую выборку, можно полагать, что переломная (критическая) концентрация находится около $6 - 7 \text{ мкг/дм}^3$.

Достаточно наглядно наличие такой критической концентрации демонстрирует рис. 7. На нем представлена зависимость отношения концентрации ртути в эритроцитах к таковой в плазме в зависимости от концентрации ртути в цельной крови.

При концентрации ртути в цельной крови около 6 мкг/дм^3 наступает резкий перелом в распределении ртути между эритроцитами и плазмой, при ее повышении все большая доля ртути обогащает плазму. Таким образом, обнаружен феномен перераспределения ртути между форменными элементами и плазмой при нагрузке крови ртутью.

Накопление ртути в плазме имеет патогенетическое значение, оно свидетельствует о появлении в крови, точнее в ее плазме, значительного количества подвижной формы ртути, увеличении ее доступности и усилении токсического эффекта.

Можно рассматривать две причины этого феномена. Во-первых, отсутствие в эритроцитах свободных лигандов для связывания ртути - токсикант при этом оказывается в плазме. Во-вторых, при соответствующих концентрациях ртути может наступать гемолиз эритроцитов. Действительно, мы наблюдали некоторые признаки гемолиза крови крыс, затравленных высокими концентрациями ртути. Поэтому можно говорить о токсическом действии ртути на эритроциты, разрушение которых может привести к анемии, снижению дыхательной функции крови. Возможно, в основе этого явления лежит процесс перекисного окис-

ления, активируемый тяжелыми металлами [19].

Следует отметить, что вопрос о величине «допустимого» (или «нормы») содержания ртути в крови человека является дискуссионным. Существуют представления, что этот показатель не столь значим для оценки состояния пациента при постановке диагноза «токсическое действие ртути»; важнее знать суточную дозу поступления токсиканта в организм. По одним данным суточное потребление ртути не должно превышать 3.3 мкг/кг массы тела [20], в другой работе приведена величина близкая - 5 мкг/кг массы тела [21].

Анализ доступных биосред на содержание в них ртути остается практически единственным источником данных непосредственно связанных с действием токсиканта, кровь выступает в данном случае главным источником информации для постановки диагноза. Часть исследователей считает, что если содержание ртути в крови находится в пределах от 3-х до 7 мкг/дм^3 , то обменные процессы в организме не нарушены, превышение этого показателя более 10 мкг/дм^3 указывает на то, что обмен веществ в организме изменен [8, 22].

В Германии практикуется несколько иной подход к ртутной интоксикации. По немецким стандартам (Kommission Human-Biomonitoring, 1999) различают два уровня содержания ртути в крови человека: первый - уровень «тревожности» (alert), если в крови ртути менее 5 мкг/дм^3 ; второй - уровень «действия» (action) если в крови ртути более 15 мкг/дм^3 [23]. В то же время немецкие исследователи полагают, что и первый, уровень тревожности (alert) в 5 мкг/дм^3 не безупречен, они и при этой концентрации ртути в крови обнаружили по неврологическим тестам отклонения от нормы [24].

Выводы. Проведенные экспериментальные и клинические исследования показывают, что существует пороговая концентрация ртути в цельной крови, для человека равная примерно 7 мкг/дм^3 , при которой ртуть преимущественно находится в связанном состоянии в эритроцитах; при превышении этого значения в плазме появляется избыток «свободной» ртути, которая может абсорбироваться различными органами и тканями. Следовательно, для человека содержание ртути в крови 7 мкг/дм^3 является критическим, данное значение должно рассматриваться как верхний референтный предел.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гигиенические нормативы. ГН 2.1.6.686-98. Минздрав России, Москва, 1998.
2. Ртуть содержащее отходы потребления и их утилизация. <http://www.komtek-eco.ru/index-4.html>
3. Зибарев У.И., Чапин М.В., Захарова Н.В., Почкарев И.Н. Ртуть как наиболее опасный источник техногенного загрязнения в России. //Вестник российской воен.-мед. академии, 2008. - № 3(23), - Прилож. 2, ч.1. - С. 108 – 109.
4. Энциклопедический словарь медицинских терминов. Под ред. Петровского. М.: Советская энциклопедия, 1983. - Т. 2. - С. 168.
5. Ершов Ю.А., Плетнева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. - М. Медицина, 1989. - 272 с.
6. Органические соединения ртути.// Научные обзоры советской литературы по токсичности и опасности химических веществ. Вып. 117. Под ред. Измерова Н.Ф. - М., Центр международных проектов, 1989. - 69 с.
7. Малов А.М., Иванова Т.М., Петров А.Н., Семенов Е.В., Королева О.В., Петров А.В., Сизова К.В., Колбасова Е.Н. Особенности диагностики и тактика ведения больных при меркуриализме. // Токсикологический вестник. – 2004.- № 5, С. 8 -15.
8. Ртуть и ее неорганические соединения. Под ред. Измерова Н.Ф. - М., Центр международных проектов, 1998. - 116 с.
9. Семенов Н.В. Биохимические компоненты и константы жидких сред и тканей человека. - М.: Медицина, 1973 - 243 с.
10. Тиц Н. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. -М.: Лабформ, 1997. - 1325 с.
11. Можжев Е.А., Литвинов А.Н. Биомониторинг металлов // Гигиена и санитария. - 1988. - № 7, С. 53 – 56.
12. Ревич Б.А. Гигиеническая оценка содержания некоторых химических элементов в биосубстратах человека // Гигиена и санитария. – 1986.- № 7. С. 59 - 62.
13. Рутковский Г.В., Малов А.М., Сибиряков В.К. и др. Методические подходы к созданию стандартного образца предприятия состава ртути в крови // Здоровье и окружающая среда. Вып. 10/ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены». – Минск: Друк-С, - 2007. – С. 946 - 957.
14. Stanton A. Glantz, McGraw-Hill. Primer of Biostatistics. Fourth edition, Inc.- New York.: 1997. - pages: xvi+473+computer program.
15. Ertas O.S., Tezel H. A validated cold vapor-AAS method for determining mercury in human red blood cells // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2004. - Nov. 19., Vol. 36(4), -P. 893 - 897.
16. МУК 4.1.1470-03 «Атомно-абсорбционное определение массовой концентрации ртути в биоматериалах при гигиенических исследованиях» // Сборник методических указаний - 4.1. Методы контроля. Химические факторы – Атомно-абсорбционное определение ртути в объектах окружающей среды и биологических материалах. М.: Минздрав России, 2003.
17. ГОСТ 26927-86 «Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути».
18. Лабораторные методы исследования в клинике. Под ред. Меньшикова В.В. – М.: Медицина, 1987. - 368 с.
19. Пыхтева Е.Г., Большой Д.В., Селиваненко Н.Г., Шафран Л.М. Кадмий и ртуть. Токсикология тяжелых металлов – обязательных контаминантов природных вод. <http://www.ecologylife.ru>
20. Абрамова Ж.И., Гадакина И.Д. Ртуть и ее соединения. Руководство по гигиене труда. - М., Медгиз, 1963. - Т. 2. - С. 281 – 284.
21. Критерии санитарно-гигиенического состояния окружающей среды. Ртуть. - ВОЗ. Женева, 1979. – 246 с.
22. Pathological, clinical and epidemiological research about Minimata disease, 10 years after. Research committee on Minimata disease. - Kumamoto, Kumamoto University. 1975. -149 p.
23. 23 Ewers U., Krause C., Schulz C., Wihlhem M. Reference values and human biological monitoring values for environmental toxins // Int. Arch. Occup. Environ. Health. - 1999. – V.72.- P. 255 – 260.
24. 24. Drasch G., Bose-O'Reilly S., Maydl S., Roeder G. Scientific comment on the German human biological monitoring values (HBM values) for mercury // Int. J. Hyg. Environ. Health. – 2002. – V.205. - P. 509 – 512.

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

Storing of mercury in blood of rats and humans

Institute of Toxicology, St. Petersburg

Based on experimental and clinical data, the distribution of mercury between blood erythrocytes and plasma in rats and humans was investigated. The top reference limit value of the mercury concentration in the human whole blood equal to 7 mkg/dm³ was substantiated.

Материал поступил в редакцию 01.11.2010 г.

УДК 615.33

Сравнительное изучение токсического действия пептидных антибиотиков

Результат определения МТД для зервамицинов не выявил достоверных различий между Zrv-IIA и Zrv-IIВ. По результатам исследования зервамицинов может быть отнесен ко 2-му классу токсичности ($2 > LD_{50} > 20$ мг/кг) для мышей CD-1. Пептидный антибиотик ареницин, в отличие от зервамицинов, может быть отнесен к 3-му классу токсичности ($20 > LD_{50} > 700$ мг/кг) для мышей CD-1. Пептидный антибиотик аурелин проявляет

Дьяченко И.А.¹, Мурашев А.Н.¹, Якименко, З.А.², Баландин С.В.², Овчинникова Т.В.²

¹ Лаборатория биологических испытаний Филлала ИБХ РАН, г. Пущино
² Учебно-научный центр ИБХ РАН, г. Москва

выраженную токсическую картину в дозе 75 мг/кг, сопровождающуюся гибелью экспериментального животного. Однако в дозе 50 мг/кг гибель не наблюдалась, что позволяет предварительно отнести исследуемый пептидный антибиотик к 3-му классу токсичности для мышей CD-1.

Ключевые слова: токсичность, антибиотик

Введение. Антимикробные пептиды (АМП) – эволюционно древние факторы врожденного иммунитета, играющие ключевую роль в защите многоклеточных организмов от инфекции. К настоящему времени определены структуры около тысячи природных АМП. Фундаментальные структурно-функциональные исследования АМП тесно связаны с их важным прикладным значением: природные пептиды могут стать прототипами новых антибиотиков широкого спектра действия, способных решить проблему резистентности к существующим антимикробным средствам. В связи с этим поиск природных АМП и создание новых пептидных антибиотиков на их основе являются актуальными задачами современной биологической науки.

В настоящей работе нами было проведено сравнительное исследование представителей трех классов пептидных антибиотиков: ареницина из целомоцитов морского червя *Arenicola marina* [1,2], аурелина из мезоглеи сцифоидной медузы *Aurelia aurita* [3] и зервамицина из мицелия спорообразующего гриба *Emericellopsis salmosynnemata* [4].

Ареницин является эндогенным пептидным антибиотиком беспозвоночного животного – пескожила морского, относящегося к классу Polychaeta (многощетинковые) типа Annelida (кольчатые черви). Пептид вырабатывается целомоцитами (фагоцитирующими клетками целома червя) и обладает антибактериальной и противогрибковой активностью. В ходе предшествующей работы нами были определены полные первичные структуры двух изоформ ареницина, ареницина-1 и ареницина-2, имеющих молекулярную массу 2758,3 Да и 2772,3 Да, соответственно, и различающихся лишь одним аминокислотным остатком в положении 11 (остаток Val в ареницине-1 и остаток Ile в ареницине-2) [1]. Механизм действия ареницина предположительно состоит в избирательном нарушении барьерной функции клеточных мембран патогенных микроорганизмов, не затрагивающем мембраны клеток организма-хозяина. Ареницин является представителем принципиально нового семейства антимикробных пептидов и может найти применение в качестве антибиотика широкого спектра действия.

Аурелин, проявляющий антимикробную активность в отношении грам-положительных и грам-отрицательных бактерий, был выделен из мезоглеи сцифоидной медузы *Aurelia aurita* – древнего беспозвоночного животного [тип – кишечнополостные (Cnidaria), класс – сцифоидные (Scyphozoa)]. Ранее нами была установлена полная первичная структура аурелина, который имеет молекулярную массу 4297 Да, содержит 40 аминокислотных остатков, в том числе 6 цистеинов, образующих три дисульфидные связи [3]. По этому признаку, а также по структуре предшественника аурелин близок к АМП семейства деффенсинов и некоторым другим цистеин-содержа-

щим АМП. Вместе с тем, порядок расположения остатков цистеина сближает его с представителями семейства блокаторов K^+ -каналов из морских анемонов (BgK, ShK и др.) – молекулами, обладающими также иммуносупрессорными свойствами [3].

Зервамицины относятся к пептаиболам – пептидам, содержащим в своей структуре α , α -диалкиламинокислоты и С-концевые аминоспирты. Из культур различных штаммов гриба *Emericellopsis salmosynnemata* ранее было выделено 11 изоформ зервамицинов, среди которых преобладающими являлись зервамицин IА (Zrv-IА) и зервамицин IIВ (Zrv-IIВ). Первичные структуры зервамицинов Zrv-IА и Zrv-IIВ различаются лишь одним остатком в положении 4 (α -аминоизомасляная кислота в Zrv-IА и D-изовалин в Zrv-IIВ) [4]. Изучение биологических свойств зервамицинов показало, что они обладают не только выраженной активностью против грам-положительных и грам-отрицательных бактерий [4], но и проявляют антипротозойное действие по отношению к устойчивым формам возбудителя малярии *Plasmodium falciparum* [5].

Биологические свойства ареницина, аурелина и зервамицина позволяют рассматривать их в качестве потенциальных антибиотических лекарственных средств. Целью данного исследования было сравнительное изучение токсичности перечисленных выше пептидных антибиотиков на мышах CD-1.

Методика исследования. Рекомбинантные ареницин и аурелин были получены, как описано ранее [6-8]. Были получены конструкции для гетерологической экспрессии ареницина и аурелина под контролем промотора фага T7 в виде гибридных белков с бактериальной кетостероид-изомеразой и тиоредоксином А *E.coli*, а также продуценты пептидов на основе штамма *E.coli* BL21(DE3). Схема выделения рекомбинантных ареницина и аурелина включала аффинную металло-хелатную очистку гибридных белков, их расщепление бромцианом по искусственно введенному остатку метионина, а также финальную очистку целевых пептидов с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ [6-8].

Исследования выполнялись на мышах CD-1. Животные были получены из НПП ФИБХ «Питомник лабораторных животных» и содержались в барьерных помещениях в стандартных условиях, рекомендуемых для содержания грызунов [9]. Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены биоэтической комиссией ФИБХ и соответствовали «Принципам надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р-53-434-2009). Пептиды вводили внутривенно и внутривенно, используя стандартные объемы введения [10].

Определение класса токсичности, а также летальных (ЛД₁₆, ЛД₅₀) и максимальных толерантных доз (МТД) выполняли при однократном вве-

дении вещества самцам мышей. Для определения класса токсичности использовали рекомендации руководства 420 OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [11] классификацию И.В. Березовской [12]. Введение препаратов начинали со стартовой дозы 50 мг/кг. В зависимости от токсических проявлений в предыдущей группе следующим группам животных вводилась более высокая или низкая доза препарата. После введения за всеми животными проводилось наблюдение в течение 14 дней. Расчет ЛД₁₆ и ЛД₅₀ производили методом наименьших квадратов с использованием пробит-анализа [10]. За МТД принималась максимальная доза, при которой наблюдались выраженные признаки токсичности у нескольких животных и гибель не более одного животного в группе.

Результаты и обсуждение. Определение ЛД₅₀ показало, что внутривенное введение зервамицинов в дозе 20 мг/кг вызывает практически однотипную клиническую картину отравления, которая не зависит от изоформы вводимых зервамицинов: через 1-3 минуты после введения отмечается выраженное угнетение животных, резкое снижение локомоторной активности, урежение дыхания, кома в течение последующих 1-2 часов. Гибель животных регистрируется в течение первых двух часов. Результаты клинического осмотра показали, что у животного происходит угнетение дыхательного центра с выраженным угнетением центральной нервной системы. Результаты расчета ЛД₅₀ представлены в таблице 1.

Внутривенное введение арилицина в дозе 50 мг/кг вызвало гибель экспериментальных животных. Результаты расчета ЛД₅₀ представлены в табл. 1. Последующее снижение дозировки до 45 мг/кг и 40 мг/кг приводило к гибели 20% животных из каждой экспериментальной группы. Осмотр в клетке показал, что после введения у всех экспериментальных животных наблюдалось прерывисто-поверхностное дыхание Чейн–Стокса, которое свидетельствовало о высокой токсичности исследуемого препарата и сердечной недостаточности у экспериментальных животных. Обнаружено резкое покраснение кончиков ушей и хвоста, которое спадало через 10 минут после введения. Данный признак указывает на расширение периферических сосудов, возможную транзиторную гипертензию и учащенное сердцебиение. Осмотр животного на открытой площадке показал вялую двигательную активность и полное отсутствие исследовательской активности. У животных, получавших высокие дозировки арилицина, наблюдался тремор конечностей и общая прострация. Большинство животных при нахождении на открытой площадке передвигались несколько шагов в коматозном состоянии и замирали в сгорбленной позе. Обнаружено отсутствие реакций на резкий звук и прикосновение. В группах, получавших высокие дозировки, наблюдалась гибель животных через 15-18 минут после введения.

Снижение дозировки арилицина до 35 мг/кг способствовало выживанию 75% экспериментальных животных на 14 сутки после введения. Осмотр животных в клетке показал, что сразу после введения обнаружено покраснение ушей и кончика хвоста, однако уже через 7-8 минут покраснение спадало. Осмотр животного на открытой площадке: локомоторная активность - 1-2 (по 3-балльной шкале), исследовательская - 1-2 (по 3-балльной шкале), обнюхивание - в норме. Данные признаки наблюдались на протяжении 4-6 часов после введения, в дальнейшем животные не отличались по поведению от интактных животных.

Определение летальной дозы и МТД при внутривенном введении аурелина вызывает однотипную с арилицином клиническую картину отравления: через 1-3 минуты после введения отмечается угнетение двигательной и исследовательской активности, урежение дыхания, сгорбленная поза. Введение дозы 75 мг/кг вызвало гибель экспериментального животного через 2 часа после введения. Стартовая доза 50 мг/кг не вызвала гибели животных, однако, были обнаружены выраженные токсические признаки, характерные для арилицина.

Введение арилицина или аурелина в дозе <35 мг/кг не оказывало негативного влияния на состояние животных, поведение которых не отличалось от такового у интактных особей.

Таблица 1

Показатели летальных доз ЛД₁₆, ЛД₅₀ и максимально толерантная доза (МТД) при его однократном введении самцам мышей CD-1.

Показатель	Ziv IIA	Ziv IIB	Арилицин
ЛД ₁₆ , мг/кг	4,3	4,2	32,6
ЛД ₅₀ , мг/кг	5,5	5,4	38,1
МТД, мг/кг	4	4	30

Выводы. Результаты определения МТД для пептида зервамицина не выявил достоверных различий между Zrv-IIA и Zrv-IIB. Клинические проявления для данных пептидов были схожими. По результатам исследования зервамицины могут быть отнесены ко 2-му классу токсичности ($2 > LD_{50} > 20$ мг/кг) для мышей CD-1.

Результаты клинического осмотра в первый день после введения ареницина показали, что гибель животных наблюдается в первые 20-25 минут после введения препарата в дозе 50 мг/кг. Проявление прерывистого дыхания и синюшной кожи сопровождается гибелью животного. Обнаруженные клинические признаки указывают на угнетение дыхательного центра, сердечно-легочную недостаточность, подавление ЦНС. Пептидный антибиотик ареницин может быть отнесен к 3-му классу токсичности ($20 > LD_{50} > 700$ мг/кг) для мышей CD-1.

Пептидный антибиотик аурелин проявляет вы-

раженную токсическую картину в дозе 75 мг/кг с гибелью экспериментального животного. Однако, в дозе 50 мг/кг гибель не наблюдалась, что позволяет предварительно отнести исследуемый пептидный антибиотик к 3-му классу токсичности для мышей CD-1.

Введение ареницина или аурелина в дозе < 35 мг/кг не оказывает негативного влияния на состояние животных, поведение которых не отличается от такового у интактных особей.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (проект НК-602П/19).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ovchinnikova T.V., Aleshina G.M., Balandin S.V., Krasnodembkaya A.D., Markelov M.L., Frolova E.I., Leonova Y.F., Tagaev A.A., Krasnodembky E.G., Kokryakov V.N. Purification and primary structure of two isoforms of arenicin, a novel antimicrobial peptide from marine polychaeta *Arenicola marina* // FEBS Lett. – 2004. - V. 577. - No.1-2. - P.209-214.
2. Ovchinnikova T.V., Aleshina G.M., Balandin S.V., Markelov M.L., Krasnodembkaya A.D., Kokryakov V.N. Пептиды ареницина, выделенные из морского кольчатого червя *Arenicola marina*, обладающие антимикробным действием. // Патент на изобретение № 2261866. Заявка №2004103808. Приоритет изобретения 10 февраля 2004 г. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 10 октября 2005 г.
3. Ovchinnikova T.V., Balandin S.V., Aleshina G.M., Tagaev A.A., Leonova Y.F., Krasnodembky E.G., Men'shenin A.V., Kokryakov V.N. Aurelin, a novel antimicrobial peptide from jellyfish *Aurelia aurita* with structural features of defensins and channel-blocking toxins. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2006. - V.348. - No.2. – P.514-523.
4. Argoudelis A.D., Dietz A., Johnson L.E. Zervamicins I and II, polypeptide antibiotics produced by *Emericella nidulans* var. *salmonis*. // J. Antibiot. - 1974. - V.27. – No.5. - P.321-328.
5. Nagaraj G. Uma M.V. Shivayogi M.S. Balaraj H. Antimalarial activities of peptide antibiotics isolated from fungi. // Antimicrob. Agents Chemother. 2001. - V.45 – No.1. - P.145-149.
6. Баландин С.В., Кокряков В.Н., Овчинникова Т.В. Рекombinantная плазмидная ДНК рE-His8-TxL-Ar2, кодирующая гибридный белок, содержащий антимикробный пептид ареницин морского кольчатого червя *Arenicola marina*, и штамм *Escherichia coli* BL21(DE3)/pE-His8-TxL-Ar2 – продуцент гибридного белка, содержащего ареницин // Патент на изобретение № 2316590. Приоритет изобретения 16 июня 2006 г. Заявка на патент РФ №2006121112 (022922) от 16 июня 2006г. Решение о выдаче патента от 02 июля 2007г. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 10 февраля 2008 г.
7. Баландин С.В., Кокряков В.Н., Овчинникова Т.В. Способ получения антимикробного пептида ареницина // Патент на изобретение № 2316595. Приоритет изобретения 16 июня 2006 г. Заявка на патент РФ №2006121111 (022921) от 16 июня 2006 г. Решение о выдаче патента 12 июля 2007 г. Зарегистрировано в

Государственном реестре изобретений РФ 10 февраля 2008 г.

8. Баландин С.В., Финкина Е.И., Кокряков В.Н., Овчинникова Т.В. Плазмидный вектор рE-TxL-Aur, штамм *Escherichia coli* для экспрессии антимикробного пептида аурелина и способ получения указанного пептида // Заявка на патент РФ №2009143085 от 24.11.2009.
9. The Guide for Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. М.: Медицина, 2005.
11. Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure. OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Guideline 420. Paris: OECD, 2001.
12. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парантеральных способах введения // Хим.-фарм. ж.-2003.-т.37. - № 3. – С. 32-34.

Dyachenko I.A.¹, Murashev A.N.¹, Yakimenko Z.A.²,
Balandin S.V.², Ovchinnikova T.V.²

Comparative investigation of general toxic action of peptidic antibiotics

¹Laboratory of Biological Testing, Branch of M.M.Shemyakin and Yu.A.Ovchinnikov Research Institute of Bioorganic Chemistry, Settlement Pushchino, Moscow Region
²Training and Research Center, M.M.Shemyakin and Yu.A.Ovchinnikov Research Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow

The outcome of the determination of the Maximum tolerance dose (MTD) did not show any authentic differences between Zrv-IIA and Zrv-IIB. Based on investigation results, Zervamicin can be referred to toxicity class 2 ($2 > LD_{50} > 20$ mg/kg for mice CD-1). The peptidic antibiotic Arenicin unlike Zervamicins could be allocated to toxicity class 3 ($20 > LD_{50} > 700$ mg/kg for mice CD-1). The peptidic antibiotic Aurelin manifests an expressed toxic picture at a dose of 75 mg/kg followed by the death of the laboratory animal. However, the death was not noted at the dose of 50 mg/kg which allows to presumably allocate the peptidic antibiotic investigated to toxicity class 3 for mice CD-1.

Материал поступил в редакцию 21.06.2010 г.

Химико-токсикологическое исследование метамизола в моче

Разработаны методики изолирования метамизола из мочи, его идентификации и количественного определения с помощью химических (хромогенные и микрокристаллоскопические реакции) и физико-химических методов (методы ТСХ, ВЭЖХ). Комплексное использование указан-

Саркисян М.С.*, Лазарян Д.С.

ГБОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия»
Минздравоохранения России, г. Пятигорск

ных методов позволяет достоверно диагностировать отравления метамизолом как индивидуально, так и в сочетании с другими анальгетиками.

Ключевые слова: метамизол натрия, анальгетики, отравления, анализ.

Введение. Анальгетики одни из наиболее часто применяемых лекарственных препаратов. Прием анальгетических средств довольно часто становится первым и наиболее легким способом управления стрессом и болью. Одним из наиболее известных и доступных болеутоляющих лекарственных средств – метамизол (метамизол натрия), широко используемое для купирования боли как индивидуально, так и в лекарственных формах сложного состава («Андипал», «Темпалгин», Пенталгин Н», «Пальгин», «Седальгин-Нео», «Баралгин», «Спазмалгон» и др.) [2].

Наряду с достаточно сильным анальгетическим действием, метамизол оказывает токсическое действие на организм и может вызвать агранулоцитоз, лейкопению и др. При бесконтрольном применении метамизола, часто в сочетании с другими анальгетиками (парацетамол, ибупрофен и др.) велика возможность возникновения патологических изменений в организме человека, в том числе со смертельным исходом [1,3,4]. В связи с этим метамизол запрещен к применению во многих странах не только развитых, но и развивающихся [3]. Несмотря на это метамизол в России является одним из наиболее часто применяемых анальгетиков. Вместе с тем данные по химико-токсикологическому исследованию метамизола в литературе весьма ограничены. В связи с этой целью нашего исследования явилась разработка схемы химико-токсикологического анализа метамизола в моче как индивидуально, так и при комбинированных отравлениях.

Для реализации поставленной цели нами были разработаны методики изолирования, идентификации и количественного определения метамизола с помощью хроматографических методов – ТСХ и ВЭЖХ.

Методики исследования, результаты и обсуждения. Предварительно нами были разработаны методики идентификации и количественного определения метамизола в водных растворах [6]. Найденные оптимальные условия использованы для разработки схемы химико-токси-

кологического анализа метамизола в моче. На начальном этапе была разработана методика количественного определения метамизола, позволяющая контролировать степень его экстракции из биологической жидкости.

Количественное определение метамизола проводили в разработанных ранее условиях методом ВЭЖХ, с использованием параметра площади пика – хроматографическая колонка размером 2x75 мм, заполненная обращено – фазовым сорбентом ProntoSil 120-5C-18 AQ. Подвижная фаза: элюент А – 0,1% раствор кислоты трифторуксусной, элюент Б – ацетонитрил, скорость потока – 100 мкл/мин; аналитические длины волн – 230, 244, 262, 272, 284 и 326 нм; время измерения – 0,18 сек; температура термостата колонки – комнатная; градиент от 10% до 20% за 10 мин, от 20% до 80% за 10 мин далее изократично 80% ацетонитрила – 5 минут; общее время хроматографирования 25 минут; объем пробы – 10 мкл [6].

Количественное содержание рассчитывали по площади пика стандартного образца метамизола. Линейная зависимость соблюдается в пределах концентраций 0,002 – 10 мкг/мкл, коэффициент корреляции равен 0,999.

Для определения воспроизводимости методики готовили растворы стандартных образцов метамизола в шести повторностях. Полученные результаты анализа при ведены в табл. 1.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что разработанная методика позволяет определять количественное содержание исследуемых лекарственных веществ в водных растворах с относительным стандартным отклонением не превышающим 0,73%, что является удовлетворительным для методик количественного определения с использованием метода ВЭЖХ.

Для определения правильности методики готовили 9 растворов стандартных образцов метамизола на трёх уровнях концентраций в трёх повторностях. Полученные результаты анализа приведены в табл. 2.

Границы открываемости с учётом доверитель-

Таблица 1

Результаты установления правильности методики количественного определения метамизола методом ВЭЖХ

№ п/п	Содержание, мкг/мл		Найдено, %	Метрологические характеристики
	взято	найдено		
1.1	1	0,9859	98,59	$X_{\text{ф}} = 99,84\%$ $SD=0,92$ $RSD=0,73\%$
1.2	1	0,9988	99,88	
1.3	1	0,9981	99,81	
1.4	1	1,0114	101,14	
1.5	1	1,0052	100,52	
1.6	1	0,9912	99,12	

Таблица 2

Результаты количественного определения метамизола методом ВЭЖХ

№ п/п	Содержание, мкг/мл		Открываемость R, %	Метрологические характеристики
	внесено	найдено		
1.1	0,01	0,00998	99,8	$R = 99,89\%$ $SD=0,37$ $RSD=0,37\%$
1.2	0,01	0,01004	100,4	
1.3	0,01	0,00996	99,6	
2.1	0,1	0,10005	100,05	
2.2	0,1	0,0998	99,8	
2.3	0,1	0,1003	100,3	
3.1	1	1,0008	100,08	
3.2	1	0,992	99,2	
3.3	1	0,998	99,8	

Таблица 3

Степень экстракции метамизола при двукратном экстрагировании хлороформом из водных растворов

Вещество	Степень экстракции, %	Метрологические характеристики
метамизол	80,3; 82,4; 81,33; 82,31; 81,45; 81,07	$\bar{X}=81,48$; $Sx=0,32$; $\Delta\bar{X}=\pm 0,83$; $\epsilon=1,02\%$

ного интервала не выходят за пределы 98-102%, что позволяет использовать данную методику для количественного определения метамизола в биологических жидкостях.

Для разработки оптимальной методики изолирования метамизола из биологического объекта нами были использованы ранее найденные оп-

тимальные условия его изолирования из водных растворов (экстрагент – хлороформ, значение pH среды – 10, насыщенный раствор натрия хлорида, время экстракции 5 минут), позволяющие получить его максимальный выход – 84,75±1,49%.

В поисках максимальной степени изолирования исследуемого лекарственного вещества дополни-

тельно изучена кратность экстракции. Для этого теоретически рассчитали процент экстракции метамизола при двукратной и трёхкратной экстракции. При этом степень экстракции метамизола при двукратном экстрагировании хлороформом составила в сумме около R=97%, а при трёхкратном около R= 100%. Поскольку увеличение степени экстракции метамизола при трёхкратном экстрагировании незначительно, посчитали возможным проводить двукратную экстракцию. Полученные результаты приведены в табл. 3.

Полученные экспериментальные данные по определению степени экстракции метамизола при двукратном экстрагировании в оптимальных условиях из водных растворов не согласуются с результатами теоретического расчёта определяемой величины, что по-видимому связано с его нестабильностью.

Поскольку в процессе изолирования лекарственных веществ из мочи, как правило, проводится гидролиз конъюгатов, нами было изучено влияние используемых реагентов (кислота, щелочь), а также температурного фактора на стабильность нативного соединения.

Известно, что с мочой выводится до 70 % метамизола в виде метаболитов [4]. Поэтому с целью повышения степени экстракции метамизола из мочи при экспертном исследовании, необходимо проводить гидролиз конъюгатов в биологической жидкости. В связи с этим нами было изучено влияние кислотного и щелочного гидролиза, на степень экстракции метамизола в модельной пробе мочи.

Методика без гидролиза: к 25 мл мочи (n=6) добавляли водный раствор метамизола, содержащий 5 мг субстанции и оставляли на 24 часа при комнатной температуре (18⁰C). Через сутки к модельным смесям добавляли 30% раствор натрия гидроксида до значения pH среды 9-10. Затем экстрагировали двукратно хлороформом, объёмом равным объёму водной фазы в течение 5 минут. После каждой экстракции тщательно отделяли слой органического растворителя от водной фазы. Полученные органические извлечения объ-

единяли и выпаривали в токе теплого воздуха до сухого остатка.

Методика кислотного гидролиза: к 25 мл мочи (n=6) добавляли водный раствор метамизола, содержащий 5 мг субстанции и оставляли на 24 часа при комнатной температуре (18⁰C). Через сутки к модельным смесям добавляли раствор кислоты хлористоводородной концентрированный до pH 2-3, полученные смеси нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут с воздушным холодильником. После проведенного гидролиза смеси охлаждали до комнатной температуры, добавляли 30% раствор натрия гидроксида до pH 9-10 и экстрагировали двукратно хлороформом, объёмом равным объёму водной фазы в течение 5 минут. После каждой экстракции тщательно отделяли слой органического растворителя от водной фазы. Полученные органические извлечения объединяли и выпаривали в токе теплого воздуха до сухого остатка.

Методика щелочного гидролиза: к 25 мл мочи (n=6) добавляли водный раствор метамизола, содержащий 5 мг субстанции и оставляли на 24 часа при комнатной температуре (18⁰C). Через сутки к модельным смесям добавляли 30% раствор натрия гидроксида до значения pH среды 9-10, полученные смеси нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут с воздушным холодильником. После проведенного гидролиза смеси охлаждали до комнатной температуры и экстрагировали двукратно хлороформом, объёмом равным объёму водной фазы в течение 5 минут. После каждой экстракции тщательно отделяли слой органического растворителя от водной фазы. Полученные органические извлечения объединяли и выпаривали в токе теплого воздуха до сухого остатка.

Полученные сухие остатки растворяли в 10 мл спирта 96% и анализировали методом ВЭЖХ в вышеуказанных условиях. Результаты приведены в табл. 4.

Данные таблицы показывают, что наибольший выход метамизола из мочи происходит при изолировании его без гидролиза и после щелочного

Таблица 4

Результаты количественного определения метамизола в моче без гидролиза, после кислотного и щелочного гидролиза

Вещество	Степень экстракции, %					
	кислотный гидролиз	метрологические характеристики	щелочной гидролиз	метрологические характеристики	без гидролиза	метрологические характеристики
метамизол	24,24 26,62 26,8 23,41 27,75 24,5	— X=25,55 Sx=0,71 ΔX=± 1,81 E=7,1%	53,57 55,36 50,48 54,27 52,34 59,25	— X=54,21 Sx=1,22 ΔX=± 3,13 E=5,78%	52,81 48,54 52,43 56,47 47,86 52,15	— X=61,71 Sx=1,28 ΔX=± 3,3 E=5,35%

Таблица 5

Результаты хроматографирования метамизола в тонком слое сорбента

Подвижная фаза	Соотношение растворителей	Значение Rf изучаемых веществ		
		парацетамол	ибупрофен	метамизол
Толуол – этанол – уксусная кислота 25%аммиак(S ₁)	64:30:4:2	0,61	0,81	0,17
Этанол – хлороформ – 25%аммиак - (S ₂)	50:46:4	0,82	0,52	0,45
Толуол – этанол – уксусная кислота - (S ₃)	75:20:5	0,16	0,59	0,11

Таблица 6

Результаты количественного определения метамизола в моче на трёх уровнях концентраций

Лекарственное вещество	Внесено, мг/мл	Найдено мкг/мл	K _s	Найдено с учетом K _s , мг/мл	R%	Метрологические характеристики
Метамизол	4,2	2,52; 2,46; 2,75	1,32	3,33; 3,36; 3,25	79,29; 77,38; 80,00	R _{ср} =81,43 SD=4,43 RSD=5,44% ΔR =±3,49 t _{расч} =0,03
	50	29,49; 34,18; 31,23		38,28; 45,12; 41,22	76,56; 90,20; 82,44	
	83	50,17; 54,56; 50,56		66,22; 72,02; 66,74	79,78; 86,77; 80,41	

гидролиза, что очевидно связано с его деструкцией в условиях кислотного гидролиза. Поэтому в дальнейших исследованиях для изолирования метамизола из экспертной мочи необходимо использовать щелочной гидролиз.

Следующим этапом наших исследований явилось идентификация метамизола в извлечениях из модельной пробы мочи методом ТСХ.

В качестве предварительного способа обнаружения метамизола в моче использовали метод хроматографии в тонком слое сорбента [6]. С целью определения специфичности методики нами была изучена возможность обнаружения метамизола в присутствии парацетамола и ибупрофена. Детекцию пятен проводили путем просмотра хроматографических пластин (Сорбфил) в УФ свете при длине волны 254 нм (0,5 мкг в пробе), с последующей обработкой 5% раствором железа (III) хлорида (1,5 мкг в пробе) и реактивом Драгендофа (0,5 мкг в пробе). Полученные результаты приведены в табл. 5.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что в найденных оптимальных условиях метод ТСХ позволяет обнаружить метамизол при проведении дифференциальной диагностики отравлений.

Далее идентификацию метамизола проводили с помощью хромогенных и микрокристаллоскопических реакций. Положительные результаты были получены с реактивами окрашивания: реактив Эрдмана (10 мкг в пробе) – розовое преходящее в желтое окрашивание; 5% раствором железа (III) хлорида (5мкг в пробе) – розовое окрашивание; 10% раствором натрия нитрита в кислоте серной концентрированной (реактив Либермана) (3 мкг в пробе) – синее окрашивание. Характерные кристаллы были получены со следующими реактивами: 0,2% водный раствор метилового оранжевого - (6 мкг в пробе); 0,2% раствор метилового оранжевого в 0,01М растворе натрия гидроксида - (3 мкг в пробе) [7].

Для идентификации метамизола также был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, в условиях описанных выше. Время удерживания метамизола соответствовало времени удерживания его стандартного образца и равно $t_{уд} = 7,26 \pm 0,17$ мин.

В найденных оптимальных условиях были анализированы модельные пробы мочи (25мл), содержащие по 4,2 мг; 50 мг и 83 мг субстанции метамизола, соответствующие его минимальной

терапевтической, максимальной суточной и рассчитанной токсической дозам, найденных исходя из среднесуточного объема мочи (1500мл). Экстракцию и количественное определение проводили по вышеописанным методикам (щелочной гидролиз, электролит – насыщенный раствор натрия хлорида, двукратная экстракция хлороформом). Для определения правильности методики количественного определения метамизола в моче, нами рассчитан коэффициент экстракции, коррелирующий степень выхода искомого вещества из биологической жидкости по отношению к его выходу из водных растворов. Данные количественного определения метамизола методом ВЭЖХ представлены в табл. 6.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что на всех трех уровнях концентраций анализируемых модельных проб мочи получены сопоставимые результаты, а относительное стандартное отклонение не превышает 6%

Для установления наличия систематической погрешности методики рассчитывали критерий Стьюдента, найденные значения не превышают $t_{расч.} = 0,03$.

Поскольку рассчитанное значение критерия Стьюдента меньше табличного ($t_{табл.} = 2,36$), методика количественного определения изучаемых лекарственных веществ не отягощена систематической ошибкой.

В результате исследования установлено, что степень экстракции метамизола из мочи в найденных оптимальных условиях изолирования составляет около 80%, а относительная погрешность не превышает $\pm 6\%$.

Выводы. Таким образом, изучены условия изолирования метамизола из модельной пробы мочи. Установлено, что наибольшая степень экстракции метамизола достигается при двукратном экстрагировании его хлороформом в оптимальных условиях, после проведения щелочного гидролиза. Разработаны методики идентификации метамизола в извлечениях из мочи методами ТСХ, ВЭЖХ, а также хромогенными и микрокристаллоскопическими реакциями. Предложена методика количественного определения метамизола в извлечениях из мочи методом ВЭЖХ. Полученные результаты исследования могут быть включены в схему дифференциальной диагностики отравлений метамизолом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Судебно-медицинская токсикология / В.А. Клевно, Е.М.Саломатин, Д.В. Богомолов и др. Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики на современном этапе / под ред. В.А. Клевно // Материалы Всерос. науч.-практ. конф. с межд. участием, посвящ. 75 – летию Рос. центра суд.-мед. экспертизы 18-20 окт. 2006.-М.: РИО ФГУ «РЦСМЭ Росздрава», 2006.-С. 132-135.
2. Машковский, М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М.Д. Машковский – 14-е изд., перераб. и доп. - М.: Новая волна, 2004. - Т. 1. – 540 с.
3. Эндриу Челти. Проблемные лекарства: Челти Эндриу - Health Action International 1998. - 360 с.
4. Clarke's Isolation and identification of drugs. - London: the Pharmaceutical Press, 1986. – 1293 p.
5. Егорова, Э.И. Микрокристаллоскопические реакции идентификации лекарственных препаратов с красителями / Э.И. Егорова, Е.А. Краснов, С.В. Терентьева // Фармация. – 1985.-№3. – С. 76-78.
6. Саркисян, М.С. Дифференциальная диагностика отравлений некоторыми анальгетиками методами ТСХ и ВЭЖХ / М.С. Саркисян, Д.С. Лазарян, М.Г. Цыбулина // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр.- Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 335-337.

7. Саркисян, М.С. Применение хромогенных и микрокристаллоскопических реакций для идентификации некоторых анальгетиков/ М.С. Саркисян, Д.С. Лазарян // О проблемных вопросах организации производства судебно-медицинских экспертиз: сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. 5-6 ноябр. 2009г. -М.: РИО ФГУ РЦСМЭ Минздрава России, 2009. – С. 344-349.

Sarkisyan M.S., Lazaryan D.S.

Chemical and toxicological investigation on Metamizole in urine

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

Methodology of isolating Metamizole in urine, its identification and quantitative evaluation was developed using chemical (chromogenic and microcrystalloscopic reactions) and physico-chemical methods (thin layer chromatography and high effective liquid chromatography methods). A complex use of the said methodology allows to authentically diagnose a poisoning by Metamizole used separately or jointly with other analgesics.

Материал поступил в редакцию 13.12.2011 г.

СЪЕЗДЫ, КОНФЕРЕНЦИИ, СОВЕЩАНИЯ

Суб-региональное совещание стран Центральной и Восточной Европы по вопросам внедрения Роттердамской конвенции по процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле

5-9 декабря 2011г. в г. Москве

5-9 декабря 2011г. в Москве состоялось суб-региональное совещание по укреплению сотрудничества назначенных национальных органов (DNA) по применению на практике Роттердамской конвенции для стран Центральной и Восточной Европы. Совещание было организовано по инициативе Секретариата Роттердамской конвенции в целях более широкого ознакомления с деятельностью этой конвенции в России после присоединения Российской Федерации к Роттердамской конвенции в 2011г. и с порядком регулирования химической продукции в РФ, включая ее регистрацию. В соответствии с распоряжением Роспотребнадзора и Минздрасоцразвития организационная часть заседания была возложена на ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора в связи с его опытом работы по Лондонским руководящим принципам по обмену информацией о химических веществах в международной торговле, на базе которой была учреждена Роттердамская конвенция. Заседание велось на русском и английском языках.

В заседании приняли участие представители Албании, Сербии, Македонии, Украины, Кыргызстана, Молдовы, России, а также 2 представителя секретариата Роттердамской конвенции, представитель ФАО, представители Минздравсоцразвития России, Роспотребнадзора, Минприроды России, ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, Регионального центра по Базельской и по Стокгольмской конвенциям при Минприроды России.

Заседание проходило в гостиничном комплексе «Измайлово». Финансирование осуществлялось в основном за счет Секретариата Роттердамской конвенции и частично за счет средств Российского регистра. Организационная часть была обеспечена силами Российского регистра.

Основные вопросы повестки дня заседания включали:

Ознакомление с основными положениями Роттердамской конвенции, включая роль Конференции сторон и Комитета по рассмотрению химических веществ, а также состояние ее внедрения в странах региона Центральной и Восточной Европы, представленных на заседании. Представители секретариата более подробно остановились на процедуре предварительного обоснованного согласия, являющейся основой деятельности Роттердамской конвенции. Эта процедура была первоначально определена в Лондонских руководящих принципах обмена информацией о химических веществах в международной торговле. Она состоит в получении и распространении заранее решений импортирующих стран об их согласии или отказе от импорта в будущем химических веществ, которые были запрещены или строго ограничены как на международном, так и национальном уровне в странах экспортера. Процедура ПОС с уточнением правил ее осуществления в полной мере реализуется в Роттердамской конвенции.

Ответы по импорту веществ, включенных в Приложение III Конвенции, касающиеся запрещенных и строго ограниченных веществ. Согласно правилам Роттердамской конвенции каждая страна, присоединившаяся к Конвенции, должна сообщить в Секретариат свое окончательное решение на основе принятых национальных законодательных или административных мер о разрешении или запрете, либо разрешении на конкретных условиях импорта указанных в Приложении III веществ. В отношении вновь включаемых в Приложение III веществ такие ответы должны быть представлены в девятимесячный срок. На конец 2011г. ответы по импорту представили следующие участники заседания: Албания – по 5-ти веществам из 43-х, включенных в Приложение III, Армения – по 34 веществам, Босния/Герцеговина (на заседании не была представлена) по 29 веществам, Монголия – по 30 веществам, Молдова – по 16 веществам, Сербия по 11 вещества. Македония, Украина и РФ такие

данные не представляли. В России это связано с тем, что процедура подготовки и представления данных в Секретариат Роттердамской конвенции на этот период еще не была окончательно утверждена.

Уведомления об окончательных регламентационных постановлениях в странах-участниках в отношении запрещенных ими или строго ограниченных химических веществ; особо опасные пестицидные препараты и процедура их представления в секретариат. Согласно тексту Роттердамской конвенции окончательным регламентационным постановлением является национальное регламентационное постановление, не требующее последующих регламентационных постановлений о запрещении или строгом ограничении химических веществ. После присоединения к Роттердамской конвенции страна должна представить в секретариат конвенции уведомления о запрещенных или строго ограниченных веществах на национальном уровне в соответствующей форме и в последующем уведомлять секретариат регулярно после принятия таких постановлений, информация о которых секретариат делает доступной для всех участников. Такие уведомления служат целям обмена информацией, являются основанием для возможных внесенных предложений о запрещении веществ на международном уровне, т.е. о внесении их в Приложение Ш, Конвенции. Они являются предметом экспортных уведомлений. За время действия Роттердамской конвенции ее участниками были запрещены или строго ограничены на национальном уровне более 170 химических веществ, включая промышленные химические вещества и пестициды. Все вещества, включенные в Приложение Ш, также запрещены или строго ограничены на национальном уровне. Число стран, которые вынесли такие постановления по веществам Приложения Ш, колеблется от 1 до 19. Во второй половине 2011г. уведомления о национальных окончательных регламентационных постановлениях были получены по пестицидам от Южноафриканской республики (альдрин, ДДТ, фторацетамид), Европейского союза (дихлофос, диниконазол-М), Бразилии (эндосульфан, трихлорфон). Конкретные данные о странах, представивших окончательные регламентационные постановления, можно получить на сайте Роттердамской конвенции www.pic.int, раздел Procedures: Notifications of final regulatory actions, database.

Уведомления об экспорте и информация в сопроводительной документации экспортируемых химических веществ. Согласно тексту Конвенции, если запрещенное или строго ограниченное вещество в стране экспортируется с ее территории, она должна уведомить об этом импортирующую сторону заранее, которая в свою

очередь должна подтвердить получение такого уведомления. При необходимости импортирующая сторона принимает необходимые меры по отказу от экспорта или его ограничению. Это не касается химических веществ, включенных в Приложение Ш, поскольку все страны участницы Конвенции должны сообщить о запрещении или строгом ограничении этих веществ в своих ответах по импорту при присоединении к Роттердамской конвенции. Конвенцией определяется также содержание сопроводительной информации при экспорте химических веществ. В нее включаются коды, рекомендуемые Всемирной таможенной организацией, которые присвоены также веществам в Приложении Ш. Экспортное уведомление представляется по утвержденной форме, оно содержит паспорт безопасности. Особые требования предъявляются маркировке, которая должна быть выполнена по возможности на языках, принятых в стране-импортере.

Информация, предоставляемая в рамках Роттердамской конвенции и ее доступность. Эта информация относится к потенциально опасным химическим веществам и особо опасным пестицидам, являющимся предметом международной торговли. Она содержится в основном в Документах для принятия решения (Decision Guidance Documents) и в циркулярах ПОС (PIC-Circulars). Документы для принятия решения разрабатываются в Комитете по рассмотрению химических веществ в качестве обоснования включения химических веществ в Приложение Ш. Они содержат карту безопасности по рассматриваемому веществу, включая его физико-химические и токсикологические характеристики, обоснование его включения в Приложение Ш, представленное странами инициаторами по его запрещению или строгому ограничению. Циркуляры ПОС подготавливаются секретариатом Конвенции и распространяются два раза в год. Они содержат перечень назначенных национальных органов, уведомления об окончательных регламентационных постановлениях, химические вещества, включенные в Приложение Ш, уведомления по ответам по импорту, перечень химических веществ, предложенных для включения в Приложение Ш, уведомления по экспорте и содержание экспортной документации, таможенные коды для веществ, подпадающих под действие Конвенции. Любую дополнительную информацию по химическим веществам, подпадающим под действие Конвенции, включая экономического, токсикологического, научного, законодательного характера, можно получить от соответствующего назначенного национального органа или секретариата Конвенции. На заседании обсуждалась роль Центра сбора, обработки и распространения информации Конвенции, который представляет собой сайт интернета, обслу-

живаемый секретариатом Конвенции, и доступ к нему.

Интеграция деятельности Стокгольмской, Базельской и Роттердамской конвенций. Речь идет о создании единых служб на уровне секретариатов трех конвенций, оставляя им полную самостоятельность в области их компетенции. Такая интеграция может повысить эффективность и координацию их деятельности, а также позволит снизить расходы на содержание аппарата. Общими элементами в деятельности трех конвенций являются применение Глобальной гармонизированной системы классификации и маркировки химических веществ, сотрудничество со Всемирным Таможенным Союзом в части использования таможенных кодов опасных химических веществ, создание единой службы сбора, обработки и распространения информации о химических веществах, сотрудничество с другими многосторонними соглашениями по окружающей среде. Например, международное соглашение Сеть по обмену информации по химическим веществам (Chemical Information Exchange Network /CIEN), в которую входят 43 африканские страны и 8 из Центральной Америки, большинство из которых входят в указанные конвенции. Комитет по пестицидам Сейшельских островов запретил 28 пестицидов, из которых 22 входят в Приложение III Роттердамской конвенции; Ассоциация стран Юго-восточной Азии: из 10 ее членов 5 являются членами Роттердамской конвенции. Все три конвенции тесно сотрудничают по линии Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ (SAICM). Такая интеграция будет постепенно осуществляться и на региональном и национальном уровнях. В качестве примера можно указать возложение приказом Минприроды на автономную некоммерческую организацию Центр международных проектов функций Регионального центра Базельской конвенции и Регионального центра Стокгольмской конвенции. Перед участниками заседания стоит вопрос о дальнейшей межведомственной координации участия в трех конвенциях по химическим веществам на национальном уровне.

Страны-участницы заседания представили сообщения об их участии в Роттердамской конвенции и регулировании химических веществ и пестицидов в их странах, том числе:

Молдова: Юридическими документами, определяющими участия Республики Молдова в Роттердамской конвенции являются: решение Правительства о национальной стратегии по снижению и устранению СОЗ от 2004г., закон о присоединении Республики Молдова к Роттердамской конвенции (2004г.) и об учреждении Назначенного национального органа. Основными заинтересованными органами в стране являются

Министерство здравоохранения, Министерство сельского хозяйства и пищевой промышленности, Министерство по окружающей среде, Министерство экономики и Министерство иностранных дел. В сообщении указаны основные виды регулируемых химических веществ, план действий и программы по обеспечению химической безопасности и защите здоровья и окружающей среды. К проблемам, подлежащим решению, относятся дальнейшая гармонизация национальных регламентирующих документов с положениями многосторонних соглашений по химической безопасности, в том числе Роттердамской конвенции, укрепление потенциала регулирования химических веществ, углубление межведомственной координации, повышение ответственности заинтересованных ведомств и устранение дублирования работ в этой области.

Кыргызстан: Ответственным национальным органом за реализацию положений Роттердамской конвенции является Государственное агентство окружающей среды и лесного хозяйства. В число других ключевых органов входят Министерство сельского хозяйства, Министерство экономического регулирования, Министерство здравоохранения, Министерство природных ресурсов, Государственная таможенная служба. Указанная деятельность осуществляется в соответствии с Постановлением Правительства КР о мерах по охране окружающей среды и здоровья населения от неблагоприятного воздействия отдельных опасных химических веществ и пестицидов (2001г.). В стране утвержден Перечень запрещенных к применению в республике химических веществ и пестицидов, включающий 25 наименований. Постановлением правительства от 2011г. этот перечень дополнен 20 химическими веществами из Приложения III Роттердамской конвенции и 4-мя веществами из Приложений А и В Стокгольмской конвенции, на которые вводится строгое ограничение. Были представлены в секретариат Конвенции 25 ответов по импорту и 17 окончательных регламентационных постановлений по химическим веществам. Подготовлены еще 15 ответов по импорту. В сообщении перечислены законодательные документы в области управления химическими веществами, в том числе закон о химизации и защите растений, список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению в КР, одобрен национальный план выполнения Стокгольмской конвенции, постановление о государственной регистрации токсичных химических веществ, постановление об инструкции о порядке приобретения, сбыта, учета и перевозки сильнодействующих ядовитых веществ. За нарушение принятых постановлений вводятся штрафы. Ведется работы по учреждению межведомственной рабочей группы по более полной реализации Роттердамской конвенции. К

проблемам, требующим решение, относятся повышение потенциала, укрупнение материально-технической базы и подготовка специалистов госнадзорных служб, усиление контроля над импортом химических веществ и пестицидов, улучшение информирования общественности, введение мониторинга за обращением химических веществ и пестицидов и др.

Сербия: Ответственным органом за политику в области регулирования химических веществ и биоцидов в Сербии является Министерство по окружающей среде, горнодобывающей промышленности и территориальному планированию. Непосредственно регулированием химических веществ занимается Сербское агентство по химическим веществам. Защита растений возложена на Министерство сельского хозяйства, лесного хозяйства и водопользования. В соответствии с решением Сербского правительства о гармонизации национального законодательства с законодательством ЕС регламентационные документы по химическим веществам общим числом 29 полностью основаны на регламентах Европейского Союза. К этим последним относятся регламент по РИЧ 1907/2006 и ряд других директив и регламентов, в том числе по классификации, маркировке и упаковке химических веществ, пестицидным препаратам а также по экспорту и импорту опасных химических веществ, биоцидным продуктам, защите растений. Контроль за соблюдением принятых законов и постановлений осуществляет Министерство по окружающей среде, горнодобывающей промышленности и территориальному планированию. Внедрение Роттердамской конвенции осуществляется в соответствии с законом о ратификации Роттердамской конвенции, законом о химических веществах и инструкций по импорту и экспорту некоторых опасных химических веществ. Функции назначенного национального органа возложены на Сербское агентство по химическим веществам. Применение, производство, импорт и экспорт промышленных химических веществ из Приложения Ш соответствуют Приложению XVII Регламента РИЧ. Импорт биоцидов, продуктов для защиты растений осуществляется в соответствии с национальным законодательством. Инструкции по импорту и экспорту некоторых химических веществ осуществляется в соответствии с Регламентом ЕС 689/2008. Представителем Сербии была также сделана презентация о национальном опыте подготовки и представления в секретариат решений по импорту. Ответы по импорту представлены в секретариат Конвенции по всем веществам Приложения Ш. Возникающие проблемы при принятии решений по импорту связаны с возможностью сербской промышленности использовать альтернативные химические вещества, а также то, что запрет мо-

жет привести к остановке бизнеса некоторых участников экономической деятельности. При этом проводятся консультации с производителями о сроках перехода на альтернативные вещества. Сербская сторона не представляла уведомления об окончательных регламентационных постановлений, поскольку они полностью соответствуют регламентам ЕС. В Сербии Центр по мониторингу отравления находится в Военной медицинской академии. Должна быть определена процедура сбора, обработки и представления данных об отравлениях пестицидами для дальнейшего представления в секретариат Конвенции. Сербское агентство по химическим веществам регулярно направляет подтверждения на получение уведомлений по экспорту, ежегодно около 30 уведомлений, в основном из европейских стран. В соответствии с национальным законодательством экспортеры должны пользоваться кодами Таможенного союза, маркировка веществ должна соответствовать глобальной гармонизированной системе GHS. Сербия не испытывает больших сложностей с внедрением Роттердамской конвенции, поскольку она не является экспортером и к тому же действует в соответствии с регламентационными документами ЕС.

Македония: Македония ратифицировала Роттердамскую конвенцию в 2011г. Законы Македонии по химическим вещества содержат полностью регламенты ЕС по регулированию риска, создаваемого химическими веществами, по GLP, РИЧ и экспорту и импорту опасных вещества. В целях расширения сотрудничества в области международной торговли в Македонии была введена процедура предварительного обоснованного согласия-ПОС. Национальные положения, касающиеся запрещения и строгого ограничения химических веществ, основаны на Приложении XVII Регламента РИЧ.

В периодическом издании Official Gazette публикуется перечень химических веществ, подлежащих процедуре ПОС, перечень стран-участниц Роттердамской конвенции, требующих информацию о транзитных химических веществах и содержание этой информации, список опасных химических веществ и продуктов, случаи, когда была применена процедура ПОС, и случаи, когда применение этой процедуры не требуется. Предприятия, компании, торгующие или использующие чрезвычайно опасные вещества, должны иметь соответствующее разрешение. Существуют правила контроля за применением некоторых опасных веществ. Ведомства, участвующие во внедрении положений Роттердамской конвенции и выполнении вытекающих из этого обязательств, являются: Министерство по окружающей среде, (законодательная деятельность), Министерство здравоохранения (промышленные химические вещества), Министерство сельского хозяйства,

лесного хозяйства и экономики водопотребления (пестициды). Задачи суб-регионального уровня состоят в укреплении сотрудничества назначенных национальных организаций и развитии обмена информацией.

Украина: Украина присоединилась к Роттердамской конвенции в 2002г. В 2010г. был введен в действие на национальном уровне Регламент РИЧ по регистрации, оценке, санкционированию и ограничению химических веществ. Ответственными организациями по участию Украины в деятельности Роттердамской конвенции являются Министерство здравоохранения и Министерство экологии и природных ресурсов. Изданы и обновляются следующие нормативные документы по веществам, подпадающим под действие Роттердамской конвенции; перечень пестицидов, запрещенных для использования в сельском хозяйстве, которые не могут быть зарегистрированы или перерегистрированы в Украине (1997г.); гигиеническая классификация пестицидов по степени опасности (1998г.), перечень пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для использования в Украине (2010г.); сборники методик определения микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и окружающей среде (последнее издание 2011г.); перечень кодов обозначений препаративных форм пестицидных препаратов по международной системе кодирования (2011г.); Издается Информационный бюллетень, содержащий токсиколого-гигиенические характеристики, нормативы и регламенты по опасным химическим веществам, подпадающим под действие процедуры предварительного обоснованного согласия.

Российская Федерация: Россия присоединилась к Роттердамской конвенции в соответствии Федеральным законом от марта 2011г. Национальными органами, уполномоченными выступать от имени РФ при выполнении функций Роттердамской конвенции являются Минздравсоцразвития и Минприроды России. Обеспечение процедуры предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных химических веществ и пестицидов осуществляет ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора. Присоединение к Роттердамской конвенции потребует внести изменения и дополнения в ряд правительственных актов в области обеспечения биологической и химической безопасности, в том числе в программу «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации» (2009-2013гг), Постановление правительства РФ №303 от 2005г. «О разграничении полномочий федеральных органов исполнительной власти в области биологической и химической безопасности Российской Федерации». Планируется создать единый перечень запрещен-

ных и строго ограниченных химических веществ и пестицидов.

Российская сторона сделала также сообщение о предоставлении ответов на уведомления об экспорте в Российскую Федерацию химических веществ, запрещенных или строго ограниченных в странах экспортерах или включенных в Приложение III Роттердамской конвенции. Основанием для ответов является экспертиза на предмет запрета на производство и потребление импортируемого химического вещества в России. Для целей экспертизы используется Регистр химических веществ, прошедших государственную регистрацию, Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, Единый перечень товаров, к которым применяются запреты или ограничения на ввоз или вывоз государствами-членами Таможенного союза в рамках Евразийского экономического сообщества в торговле с третьими странами и Положение о применении ограничений, утвержденных Решением Комиссии Таможенного союза от 2009г. Если импортируемое химическое вещество отсутствует в указанных документах, определяется необходимость проведения государственной регистрации этого вещества в соответствии с Соглашением Таможенного союза по санитарным мерам. В 2010 г. были представлены ответы на 40 уведомлений об экспорте. в 2011г на 51 уведомление.

Представитель ФАО

Функции Секретариата Роттердамской конвенции выполняют совместно ЮНЕП (Программа ООН по окружающей среде, находится в Женеве) и ФАО (Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН-находится в Риме). На заседании в Москве присутствовал представитель отделения ФАО для стран Центральной и Восточной Европы (штаб-квартира в Будапеште). Он ознакомил присутствующих с задачами и деятельностью ФАО, которые заключаются в уменьшении остроты проблемы нищеты и голода в мире путем содействия развитию сельского хозяйства, лесоводства и рыболовства и решения проблемы продовольственной безопасности. В части Роттердамской конвенции ФАО осуществляет регулирование и контроль за пестицидами в целом и мониторинг устаревших и неиспользованных отходов пестицидов. Требования, предъявляемые в Роттердамской конвенции к пестицидам и промышленным химическим веществам, являются практически одинаковыми. Различие в основном касается формы и содержания предложений по внесению особо опасных пестицидов в Приложение III. Представитель ФАО остановился также на видах оказания технической и финансовой помощи странам, осуществляющим проекты ФАО.

Презентация представителя Регионального центра Базельской конвенции для Восточно-европейского региона и Регионального центра Стокгольмской конвенции для стран Центральной и Восточной Европы в Российской Федерации.

Оба центра функционируют на базе автономной некоммерческой организации «Центра международных проектов». В презентации были подчеркнуты общие цели как двух указанных конвенций, так и Роттердамской конвенции: защита здоровья человека и окружающей среды от опасных химических веществ и отходов. Общими областями действия трех конвенций в презентации указаны регулирование использования химических веществ/отходов (ограничения/запрещение); контроль за импортом/экспортом, оценка опасности. В задачи Региональных центров на базе Центра международных проектов входит сбор и распространение информации в странах региона по проблеме особо опасных химических веществ, проведение семинаров и совещаний в целях обмена опытом и совместного сотрудничества, подготовка кадров. Центром был проведен ряд совещаний экспертов для стран СНГ и Балтии и для стран Восточно-европейского региона после распада СССР. Они состоялись в 1998, 1999, 2000, 2001, 2003, 2004, 2005, 2009, 2011 гг. В рамках проекта ЦМП/ЮНЕП разработано «Техническое руководство по проведению и инвентаризации, идентификации, сбору и хранению устаревших и запрещенных для применения пестицидов». Были продемонстрированы результаты этой деятельности на примерах модернизации условий хранения запасов устаревших пестицидов, в том числе в Российской Федерации.

Совещание показало, что во всех странах участницах осуществляется деятельность, связанная с участием в Роттердамской конвенции. Государственными учреждениями, отвечающими за участие в работе Роттердамской конвенции, являются, как правило, национальные министерства здравоохранения и министерства по защите окружающей среды (экологии). Как следует из обсуждений, в этой работе требуется более активное участие министерств сельского хозяйства. Во всех странах участницах испытывается необходимость более глубокой межведомственной координации, а также требуется более полное выполнение требований Роттердамской конвенции. Участниками Роттердамской конвенции недооценивается информация, предоставляемая Конвенцией, и с этой точки зрения сообщения представителей Секретариата Конвенции были весьма полезны. Заседание было также полезным в части взаимного ознакомления с уровнем участия в Роттердамской конвенции и регулирования химических веществ в странах-участницах. В результате дискуссий выявилась

необходимость более оперативного взаимодействия Секретариата со странами-участницами при предоставлении ими данных по выполнению обязательств Конвенции. В части получения информации для всех стран-участниц является полезным регулярное ознакомление с циркулярами и ПОС. и обращение в Центр по сбору, обработке и распространению информации на сайте Роттердамской конвенции.

*Дорофеева Е.В., Давыдова Ю.О.,
Виноградова А.А.
ФБУЗ «Российский регистр потенциально
опасных химических и биологических
веществ» Роспотребнадзора*

26.01.2012

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТ

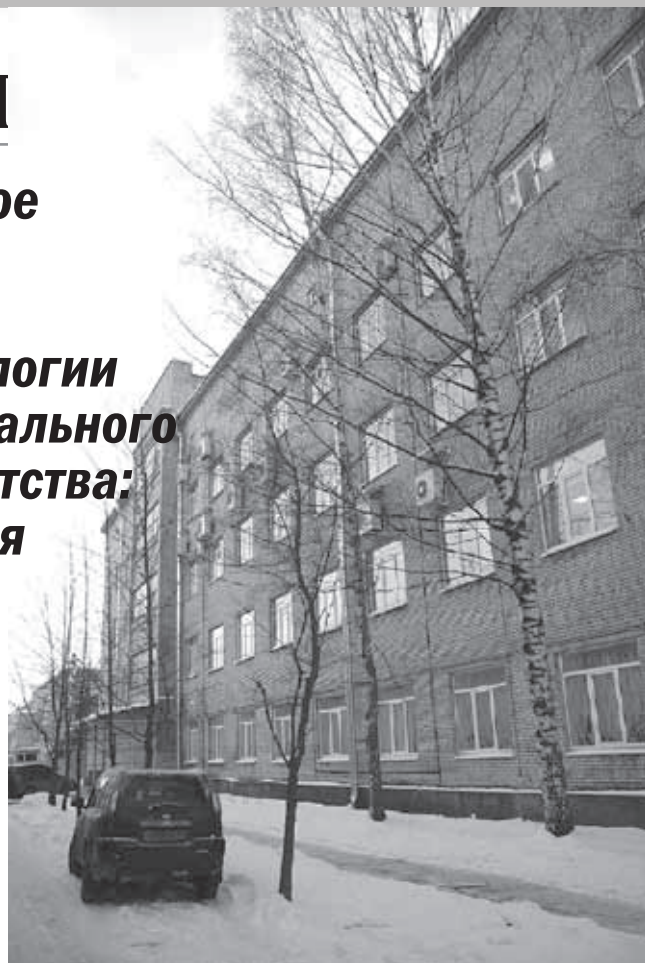
Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства: 50 лет в системе обеспечения химической безопасности Российской Федерации

Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России) организован в январе 1962 г. согласно Постановлению Совета Министров СССР № 939-398 от 14.10.1961 г. в качестве Филиала № 3 Института биофизики Министерства здравоохранения СССР (ФИБ-3). В 1984 г. распоряжением Совета министров СССР от 19.11.84 г. № 2265-РС ФИБ-3 реорганизован в Научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии Министерства здравоохранения СССР, с 2005 г. – ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России.

Директор ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России – заслуженный деятель науки, лауреат Государственной премии, профессор Рембовский Владимир Романович. Заместитель директора по научной работе – лауреат премии правительства Российской Федерации в области науки и техники, профессор Радилев Андрей Станиславович.

Первым руководителем (заведующим – 1962-1965 гг.) ФИБ-3 был назначен кандидат медицинских наук Цирк К.Г. В составе ФИБ-3 были сформированы токсикологическая, физиолого-биохимическая, морфологическая и химико-аналитическая группы, а также административно-вспомогательные подразделения.

Дальнейшее развитие института связано с выдающимся советским ученым профессором Сергеем Дмитриевичем Заугольниковым (1966-1980 гг.), под руководством которого ФИБ-3 стал ведущим научно-исследовательским центром по медико-гигиеническому сопровождению всех этапов «жизненного» цикла компонентов ракетного топлива (КРТ), предлагаемых к опытному применению и широкому внедрению в промышленность. Коллектив филиала в составе токсикологов (Беляев В.А., Антонова В.И., Кондрашов В.А., Шугаев В.А., Кузнецов А.В., Гурьянова Л.Г., Туржова Е.Б. и др.),



гигиенистов, химиков (Нагорный С.В., Кочанов М.М., Коваленко А.И., Салямон Г.С., Вишневский Е.П., Антонов Ю.П., Цибульская Е.А., Анпилов М.П. и др.), клиницистов (Мусийчук Ю.И., Лебедев Г.П., Янно Л.В., Филочева, Клевцов В.И., Пелищук В.К. и др.) и других высоко квалифицированных специалистов проводил оценку многофакторного влияния неблагоприятных факторов на человека и среду его обитания, изучение токсических свойств КРТ, в том числе развития профессиональной патологии, обоснование гигиенических нормативов.

Реорганизация Филиала № 3 в институт (НИИ ГП) в 1984 г. осуществлена под руководством профессора, лауреата Государственной премии И.И. Барышниковой. Деятельность института с данного периода направлена на решение ряда важных государственных проблем, связанных с эколого-гигиенической оценкой химически опасных предприятий, промышленных регионов, обеспечением химической безопасности. В 90-е годы XX века институт сохранил свой научный потенциал, когда деятельность многих научных организаций России прекратилась. Возглавляли институт в этот драматический период профессор Ю.И. Мусийчук (1991-1996 гг.) и доктор медицинских наук В.К. Пелищук (1996-2002 гг.).

Основная цель деятельности ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России в настоящее время заключается в исследовании и разработке мероприятий по научному обеспечению медико-гигиенического сопровождения работ с опасными химическими

технологиями, новыми химическими веществами и другими неблагоприятными факторами. Ведущими направлениями деятельности института являются:

- разработка проектов нормативно-правовых и информационно-методических документов по обеспечению санитарно-эпидемиологической безопасности, обоснование гигиенических регламентов химических веществ, разработка методов химико-аналитического контроля на объектах производственной и окружающей среды, в биосредах, гигиеническая и экологическая паспортизация опасных химических производств и прилегающих территорий;

- комплексные токсиколого-гигиенические, санитарно-экологические, медико-биологические и химико-аналитические исследования, организация медико-гигиенического и экологического мониторинга с применением автоматизированных систем диагностики на опасных химических объектах, проведение медицинских, токсикологических, эколого-гигиенических и других видов экспертиз, исследование клиники и течения профессиональной патологии, разработка методов и способов диагностики, лечения и профилактики профинтоксикаций;

Научно-исследовательских работы в институте в основном направлены на реализацию Федеральных целевых программ: «Национальная система химической и биологической безопасности РФ (2009—2013 г.)»; «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации»; «Промышленная утилизация вооружения и военной техники на 2011—2015 гг. и на период до 2020 г.».

Большой объем исследований посвящен токсиколого-гигиенической оценке ксенобиотиков в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, в том числе по выявлению отдаленных эффектов – репродуктивная токсичность, мутагенез, иммунотоксичность и др., маркеров воздействия химикатов, обоснованию гигиенических нормативов (Радилов А.С., Дулов С.А., Ермолаева Е.Е. Кондрашов В.А., Шкаева И.Е., Попов В.Б., Протасова Г.А. и др.). Продолжается создание этиотропных препаратов (антидотов), средств патогенетической и симптоматической терапии (Гончаров Н.В., Бабаков В.Н. и др.). Проводятся химико-аналитические исследования по разработке методов идентификации и количественного анализа химикатов в различных объектах окружающей среды и в биосредах (Савельева Е.И., Корягина Н.Л., Кузнецова Т.А. и др.).

Для принятия оперативных управленческих решений в системе химической безопасности разработан алгоритм комплексного медико-гигиенического мониторинга, основанный на современных методах диагностики, технологий математико-статистической обработки данных, критериях оценки профессионального риска, унифицированной классификация состояния здоровья работающих (Рембовский В.Р., Нагорный С.В., Могиленкова Л.А. и др.). Внедрены медико-санитарные паспор-

та территорий, расположенных вблизи химически опасных предприятий (Нагорный С.В., Цибульская Е.А., Комбарова М.Ю., Олейникова Е.В., Тидген В.П. и др.). На базе института разработаны и широко используются автоматизированные приборы для скрининг-диагностики воздействия ФОВ и других химикатов (Пелишук В.К., Цимбал Ф.А., Антонова В.И., Козяков В.П., Цимбал М.В., Танюхина О.Н. и др.). Для химически опасных объектов научно обоснованы лечебно-профилактические мероприятия (Филиппов В.Л., Янно Л.В., Криницын Н.В. и др.). Проводится внедрение новых информационных технологий поддержки принятия управленческих решений в системе обеспечения химической безопасности.

Таким образом, комплексные исследования по обеспечению химической безопасности, приоритетные для Российской Федерации, основаны на использовании достижений генетики, биохимии, протеомики, цитохимии, иммунологии, профилактической и других областей медицины, биологии. Эффективное выполнение данных сложных задач, внедрение новаторских идей и результатов в практику проводится высокопрофессиональными учеными совместно с молодыми талантливыми сотрудниками, постоянно повышающими свою квалификацию в соответствии с уровнем отечественной и мировой науки.

**В.Р. Рембовский, А.С. Радилов
ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России,
г. Санкт-Петербург**

Уважаемые коллеги! Всероссийская общественная организация токсикологов, редколлегия журнала «Токсикологический вестник», ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора сердечно поздравляют вас с юбилеем института и желают вам больших творческих успехов на благо российской гигиены и токсикологии!

БЮЛЛЕТЕНЬ



Российского регистра потенциально
опасных химических
и биологических веществ

▶ НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 616.153

Исследование токсичности готовой лекарственной формы препарата Панаген в условиях одномесячного хронического эксперимента на собаках

Разработанный препарат Панаген (ЛСР № 004429/08 от 09.06.2008) представляет собой фрагментированный нуклеопротеидный комплекс, выделенный из плаценты человека. Способ получения позволяет выделить полноценную геномную ДНК с сохранением тех ее фрагментов, которые прочно ассоциированы с белками ядерного матрикса. Размер фрагментированной ДНК колеблется от 200 до 6000 пар оснований. Лекарственной формой препарата являются таблетки, покрытые кислотоустойчивой оболочкой, массой 200 мг с содержанием основного вещества – дезоксирибонуклеиновой кислоты – 5 мг. В настоящее время проходит II фаза клинических испытаний препарата Панаген.

В соответствии с программой доклинического токсикологического изучения готовой лекарственной формы препарата Панаген, предложенного в качестве стимулятора кроветворения, проведено исследование ее токсичности в условиях хронического эксперимента на собаках при ежедневном, в течение 1 месяца пероральном назначении таблеток в дозе 0,7 мг/кг. Испытанная доза препарата в 10 раз превышала суточную терапевтическую дозу для человека (1 таблетка 5 мг в день или 0,07 мг/кг).

Как показали проведенные исследования, внутрижелудочное введение Панагена в готовой ле-

Арзамасцев Е.В.¹, Малиновская К.И.¹,
Левицкая Е.Л.¹, Масычева В.И.²,
Долженко Т.С.³, Алямкина Е.А.³,
Долгова Е.В.³, Проскура А.С.³,
Орищенко К.Е.³, Рогачев В.А.³,
Богачев С.С.³, Шурдов М.А.⁴

¹Научно-исследовательский институт экспериментальной кардиологии ФГУ «РКНПК» Минздрава России, г. Москва

²Институт медицинской биотехнологии ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, г. Бердск

³Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск

⁴ООО «Панаген», г. Горно-Алтайск

карственной форме в дозе 0,7 мг/кг на протяжении одного месяца не влияло на общее состояние и поведение животных. В течение всего хронического эксперимента не отмечалось влияния изучаемого препарата на динамику массы тела собак. Не установлено также статистически достоверных различий показателей ректальной температуры у собак, подвергавшихся воздействию Панагена, и контрольных животных.

Электрокардиографические исследования, проведенные до начала исследования и через 1 месяц внутрижелудочного введения Панагена собакам в испытываемой дозе 0,7 мг/кг, не выявили повышения частоты сердечных сокращений и изменений параметров ЭКГ под влиянием изучаемого препарата. Все показатели ЭКГ не выходили за пределы допустимых колебаний, характерных для данного вида лабораторных животных.

При исследовании морфологического состава периферической крови собак, получавших Панаген в дозе 0,7 мг/кг, отмечено достоверное ($p < 0,05$) по сравнению с фоновыми данными и контролем увеличение количества эритроцитов и лейкоцитов (Рис. 1).

Исследование лейкоцитарной формулы крови собак, проведенное через 1 месяц назначения Па-

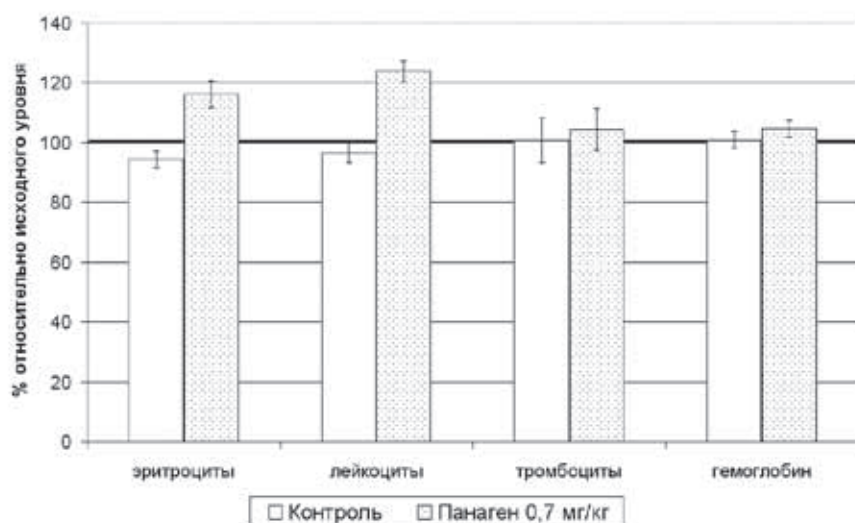


Рис. 1. Гематологические показатели собак при 1-месячном внутривнутреннем введении препарата Панаген в дозе 0,7 мг/кг по сравнению с контролем. Отображены значения относительно интактного уровня, принятого за 100%, и стандартные отклонения.

нагена в испытанной дозе 0,7 мг/кг, выявило достоверный ($p < 0,05$) по сравнению фоновыми данными и контролем сдвиг лейкоцитарной формулы влево.

Панаген в дозе 0,7 мг/кг на протяжении 1-месячного хронического эксперимента не влиял на уровень содержания общего белка сыворотки крови подопытных животных, что свидетельствует об отсутствии повреждающего действия препарата на белково-образующую функцию печени.

Для выявления возможного повреждающего действия препарата Панаген на печень исследовали активность аспартат- и аланинаминотрансфераз, щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы, а также уровень общего билирубина сыворотки крови собак. Как показали проведенные исследования, в результате 1-месячного хронического эксперимента не выявлено существенных изменений уровня общего билирубина и активности указанных ферментов крови собак, получавших Панаген в испытанной дозе 0,7 мг/кг.

По окончании одномесячного хронического эксперимента уровни содержания мочевины, креатинина, глюкозы, общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови собак, подвергавшихся воздействию Панагена, соответствовали средним величинам, характерным для данного вида животных, и существенно не отличались от исходных показателей и от показателей в контрольной группе. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии повреждающего действия изучаемого препарата на функцию почек, углеводный и липидный обмен.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что внутривнутреннее введение собакам Панагена в готовой лекарственной форме ежедневно в течение 1 месяца в дозе 0,7 мг/кг (10-кратная суточная доза для человека) не влияет на общее состояние и поведение животных, не изменяет функционального состояния важнейших органов и систем организма животных.

Для патоморфологического исследования было проведено вскрытие 4 контрольных животных и 4

собак, получавших Панаген в течение одного месяца внутривнутренне в дозе 0,7 мг/кг.

Токсического действия Панагена в испытанной дозе 0,7 мг/кг на внутренние органы животных не установлено.

Выводы

Ежедневное в течение 1 месяца внутривнутреннее введение таблеток препарата Панаген, предложенного в качестве стимулятора гемопоэза, в дозе 0,7 мг/кг хорошо переносится собаками и не влияет на общее состояние и поведение животных. Испытанная при этом доза препарата в 10 раз превышала суточную терапевтическую дозу для человека (5 мг или 0,07 мг/кг).

Под влиянием препарата Панаген в испытанной дозе 0,7 мг/кг в конце эксперимента в крови животных отмечалось достоверное по сравнению с контролем увеличение количества эритроцитов, лейкоцитов и умеренное повышение уровня гемоглобина, а также сдвиг влево лейкоцитарной формулы, по-видимому, обусловленные специфическим фармакологическим действием препарата. Назначение таблеток препарата Панаген в испытанной дозе не влияло на функциональное состояние основных органов и систем организма собак (по данным биохимических тестов и ЭКГ). Отсутствие токсических повреждений внутренних органов, связанных с действием таблеток препарата Панаген, было подтверждено результатами патоморфологических исследований, проведенных после окончания эксперимента.

Оценка генотоксичности формальдегида на бластоцидах плотвы и клетках меристемы корешков лука

Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г.

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

Введение. Формальдегид широко применяется в промышленности для получения пластических масс и формальдегидных смол, синтетического каучука, протравливания зерна и др. Вполне возможно, что отходы его производства, попадая в водоемы, оказывают негативное влияние на жизнедеятельность гидробионтов и рыб. Известна также обширная сфера пагубного влияния формальдегида на организм животных и человека, особенно подчеркиваются его мутагенные свойства, впервые установленные [1] и подтвержденные работами [2]. В эмбриотоксических опытах на плотве было установлено, что концентрация формальдегида 10^{-3} М/л подавляет линейно-весовой рост молоди и функциональную активность ферментов пищеварения [3]. Установлено также его влияние на морфогенез осевых структур в сторону увеличения общего числа позвонков и числа микроядер в эритроцитах периферической крови. На этом же объекте выявлена достаточно высокая реактивность эмбрионов на малые количества некоторых ксенобиотиков и пролонгированные негативные последствия, наблюдающиеся у рыб в первые месяцы их жизни [4,5,6].

Целью настоящей работы было определение цитотоксического эффекта формальдегида в широком ряду низких и сверхнизких концентраций. К последним относят содержание вещества в пределах 10^{-12} - 10^{-20} М/л [7,8]. Для выявления специфики порога чувствительности плотвы к тестируемому яду, использовали меристемные клетки проростков лука. В генотоксикологической практике это один из традиционных способов оценки влияния поллютантов на клеточном уровне, известный как *Allium*-Тест [9,10,11,12].

Материала и методы исследования. *Плотва.* Осемененную икру (по 500-600 шт. в каждом из вариантов), полученную от 3 самок и 3 самцов, поместили в кристаллизаторы, и после набухания и приклеивания залили равными объемами растворов формальдегида в речной воде. *Лук.* Использовали луковицы сорта «Центурион» близкого размера. Их помещали по 3 шт. в стаканчики емкостью 250 мл и через 3 дня проращивания подвергали действию тестируемых растворов формальдегида на водопроводной воде.

В эксперименте использовано 14 концентраций химиката (исходным материалом служил 37%-ный насыщенный водный раствор формальдегида, химическая формула CH_2O , молекулярная

масса 30,03 г/л,) в диапазоне $1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-20}$ М/л с шагом разведения в один порядок. Экспозиция зародышей плотвы и проростков лука в растворах при температуре 20-22°C длилась 24 ч. Отрицательным контролем в обоих случаях была дистиллированная вода. Приготовление растворов и их смену делали дважды в сутки.

Эмбрионы плотвы и проростки лука длиной 2-3 мм фиксировали в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты (3:1). Цитогенетический анализ проводили на тотальных давленных препаратах, окрашенных ацетоорсеином [13]. Схема его для обоих тест-объектов была одинаковой: учитывали общее число просматриваемых клеток и отдельно норму и отклонения по стадиям митоза - метафазы, анафазы и телофазы. Критериями нарушений были хромосомные и хроматидные мосты и полумосты, отставание хромосом при расхождении к полюсам и наличие их фрагментов в цитоплазме [14]. Для анализа использовали - у *плотвы* в каждом из вариантов не менее 10 зародышей, общее число просмотренных клеток от 6 до 11 тыс., от 216 до 445 митозов, у *лука* - по 2-3 проростка от каждой луковицы, общее число клеток - от 15 до 30 тыс., от 350 до 600 митозов.

Показателями митотической активности служило общее число делящихся клеток в %. Суммарную долю aberrантных анафаз и телофаз выражали в процентах от общего числа митозов в каждом из опытных вариантов и в процентах от контрольной величины.

Результаты обработаны статистически с использованием стандартного пакета прикладных программ Statistica 6.0. При парном и множественном сравнении данных проводили дисперсионный анализ (ANOVA) с последующей оценкой различий при помощи LSD теста [15].

Результаты исследований и обсуждение. Величины хромосомных aberrаций и митотического индекса у плотвы и лука приведены в таблице и на рисунке. Для обоих тест-объектов характерен волнообразный силуэт профилей, свидетельствующий о нелинейном характере ответов.

В отношении хромосомных aberrаций (рис. а), учитывая неравнозначность ответной реакции в выбранном ряду концентраций, основной акцент сделаем на трех условно выделенных ее разновидностях - с потенцированным эффектом, индифферентным (т.е. близким к контролю либо незначительно уклоняющимся от него влево и вправо) и

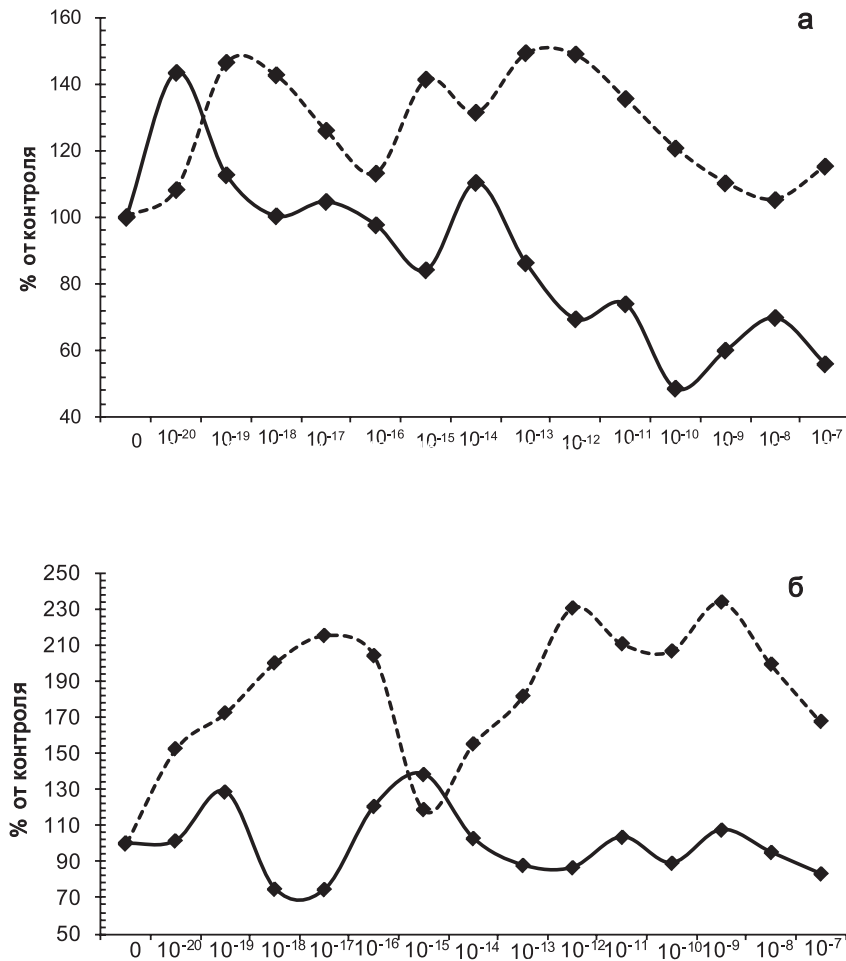


Рис. Уровень aberrантных митозов (а) и митотического индекса (б)
Сплошная линия – blastоциты плотвы; пунктирная – клетки меристемы корешков лука; по оси абсцисс – концентрация формалина, 1·10⁻ⁿ М/л.

«генопротекторным». У плотвы, первая из указанных реакций, отмечена только в одной точке (сверхмалая доза - 10⁻²⁰ М/л), вторая - в 5 точках (в диапазоне концентраций 10⁻¹⁹ - 10⁻¹³ М/л), третья - в 5 точках (концентрации 10⁻¹², 10⁻¹⁰ - 10⁻⁷ М/л), у лука преобладающей является первая реакция, реакция инициации хромосомных нарушений, она доминирует по числу достоверных точек – 9 из 10 (диапазон концентраций от 10⁻¹⁹ до 10⁻¹¹ М/л), остальные, расположенные в зоне низких количеств токсиканта, - 10⁻¹⁰ - 10⁻⁷ М/л, статистически не значимы.

Таким образом, у плотвы генотоксическая реакция формалина в испытанном диапазоне концентраций, за исключением одной сверхмалой (10⁻²⁰ М/л), по существу отсутствует, тогда как у лука, она обнаруживается почти на всем пространстве сверхнизких доз.

Видовая специфика формалина также заметно выражена при анализе его влияния на митотическую активность. На рис. б видно, что у лука преобладает достоверно значимый стимулирующий эффект, у плотвы же он проявился только в одном случае (вариант с концентрацией 10⁻¹⁵ М/л), а в

большинстве своем, митотический индекс зародышевых клеток в опытных вариантах либо соответствует контрольным величинам, либо ниже их, хотя статистически это не подтверждено.

Суммируя наблюдения, нельзя не отметить различия, проявившиеся при действии формальдегида на анализируемые показатели митоза в двух сравниваемых тест-системах. Возможно, они кроются в неодинаковой продолжительности митотического деления животных и растительных клеток, у первых она составляет 30-60 мин., у вторых – 2-3 ч [16]. Исходя из этого предположения, у плотвы угнетение митотической активности, возможно, приводит к удлинению отдельных стадий непрямого деления зародышевых клеток, и способствует элиминации значительного числа aberrантных клеток, тогда как у лука резкая стимуляция митотического процесса и связанное с ней сокращение продолжительности отдельных его фаз, инициирует нарастание ошибок в виде хромосомных нарушений.

Таким образом, сравнение двух тест-систем показало, что в одной из них (меристемные клетки лука), прямая зависимость отрицательного эффекта формальдегида в довольно широком диапазоне его сверхмалых количеств, отсутствует, в другой (зародышевые клетки плотвы), эта зависимость отражена в единичном случае. По всей видимости, блокирование систем детоксикации и репарации в определенных границах сверхмалых концентраций (10⁻¹² – 10⁻²⁰ М/л) находится вне сферы их влияния на эти процессы.

Заключение. Выявлены сходные и специфические особенности митотической активности и реакции клеток зародышей плотвы и меристемы проростков лука на действие формальдегида. Определены границы повышенной чувствительности в зоне сверхмалых количеств этого токсиканта, различающиеся у растительных и животных клеток. Полученные результаты свидетельствуют, что для более полного представления о патогенности химических ядов, помимо широкого ряда концентраций, целесообразно использование не менее двух различных тест-систем.

Таблица

Частота встречаемости aberrantных анафаз и телофаз в blastocytes плотвы и клетках меристемы проростков лука под воздействием формалина, $M \pm m$

Концентрация формалина, 1:10-n M	Тест-объект	Митотический индекс		Анафаза + Телофаза, %	
		%	% от контроля	от всех митозов	от контроля
0	Плотва Лук	40,3±3,7 15,1±3,1	100 100	51,1±8,3 24,2±2,8	100 100
1:10 ⁻²⁰	Плотва Лук	41,0±2,0 23,01,3	107,7 152,3	73,2±7,8* 26,2±2,5*	143,2 108,3
1:10 ⁻¹⁹	Плотва Лук	51,9±11,0 26,0±2,5*	128,8 172,2	57,5±4,1 35,4±2,7*	112,5 146,3
1:10 ⁻¹⁸	Плотва Лук	30,2±3,1 30,2±2,7*	74,9 200,0	51,2±4,5 34,5±2,6*	100,2 142,6
1:10 ⁻¹⁷	Плотва Лук	30,1±2,8 32,5±3,5*	74,7 215,2	53,4±1,2 30,5±2,5*	104,5 126,0
1:10 ⁻¹⁶	Плотва Лук	48,7±7,3 30,8±2,1*	120,8 204,0	49,8±5,0 27,4±3,3	97,5 113,2
1:10 ⁻¹⁵	Плотва Лук	55,8±9,4* 17,9±2,6	138,5 118,5	42,9±1,1 34,2±3,1*	84,0 141,3
1:10 ⁻¹⁴	Плотва Лук	41,5±6,9 23,4±2,4	103,0 155,0	56,3±5,3 31,8±1,5*	110,2 131,4
1:10 ⁻¹³	Плотва Лук	35,5±4,6 27,4±2,1*	88,1 181,5	44,0±2,3 36,1±3,5*	86,1 149,2
1:10 ⁻¹²	Плотва Лук	35,0±5,7 34,8±3,7*	86,8 230,5	35,4±5,6* 36,0±1,5*	69,3 148,8
1:10 ⁻¹¹	Плотва Лук	41,8±2,2 31,8±3,4*	103,7 210,6	37,7±3,3* 32,8±1,9*	73,8 135,5
1:10 ⁻¹⁰	Плотва Лук	36,0±0,5 31,2±2,3*	89,3 206,6	24,8±2,5* 29,2±2,0	48,5 120,7
1:10 ⁻⁹	Плотва Лук	43,4±1,5 35,3±3,4*	107,7 233,8	30,6±3,2* 26,7±3,5	59,9 110,3
1:10 ⁻⁸	Плотва Лук	38,4±0,3 30,1±3,7*	95,3 199,3	35,6±2,7* 25,4±2,1	69,7 105,3
1:10 ⁻⁷	Плотва Лук	33,6±1,4 25,3±2,4	83,4 167,5	28,5±3,4* 27,9±2,1	55,8 115,3

Примечание: * - Различия с контролем достоверны при $p < 0,05$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рапопорт И.А. Карбонильные соединения и химический механизм мутаций // ДАН СССР, 1946. - Т. 54. - № 1. - С. 65-67.
2. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. М.: Мир, 1974. - 463 с.
3. Кузьмина В.В., Таликина М.Г. Влияние экстремальных воздействий в период раннего индивидуального развития на пищеварительные гидролазы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии, 1998. - Т. 38. - № 4. - С. 524-529.
4. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В. Отдаленные ответы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* на действие низких концентраций хлорофоса в период раннего индивидуального развития // Вопр. ихтиологии, 2005. - Т. 45. - № 4. - С. 548-553.
5. Голованова И.Л., Таликина М.Г. Влияние низких концентраций хлорофоса в период раннего индивидуального развития на пищеварительные карбогидразы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии, 2006. - Т. 46. - № 3. - С. 412-416.
6. Изюмов Ю.Г., Таликина М.Г. Влияние сверхмалых концентраций N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина на ранний онтогенез плотвы *Rutilus rutilus*: характеристика митозов в клетках зародышей, динамика вылупления и морфология личинок // Вопр. ихтиологии, 2007. - Т. 47. - № 5. - С. 700-706.
7. Буракова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой активности // Российский химический журнал, 1999. - Т. XLIII. - № 5. - С. 3-11.
8. Гуревич К.Г. Закономерные и возможные механизмы действия сверхмалых доз биологически активных веществ // Вестн. Моск. ун-та, сер. Химия, 2001. - Т. 42. - № 2. - С. 131-134.
9. Grant W.F. Chromosome aberration assays in Allium. // Mutat. Res., 1982. - V. 99. - № 3. - P. 273-291.
10. Rank J. The method of Allium anaphase-telophase chromosome aberration assay // Ecologija (Vilnius), 2003. - Nr. 1. - P. 38-42.
11. Konuk M., Liman R., Cigerci H. Determination of genotoxic effect of boron on Allium cepa root meristematic cells // Pak. J. Bot., 2007. - V. 39. - № 1. P. 73-79.
12. Aydemir N., Celikler S., Summak Ş. Evaluation of 4, 6-Dinitro-o-cresol (DNOC) in Allium Root Tip Test // J. Biol. Environ. Sci., 2008. - V. 2. - № 5. - P. 59-63.
13. Методы биологии развития. М.: Наука, 1974. - 619 с.
14. Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. - М.: Медицина, 1972. - 263 с.
15. Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. - N.Y.: Freeman and Co, 1995. - 887 p.
16. Алов И.А. Очерки физиологии митотического деления клеток. - М.: Медицина, 1964. - 301 с.

Изучение токсических свойств нового гипогликемического соединения диабенол

Кузубова Е.А.,
Бугаева Л.И., Реброва Д.Н.,
Спасов А.А.

НИИ фармакологии, кафедра фармакологии ВолГМУ,
г. Волгоград

Целью настоящей работы явилось изучение токсикологических свойств гипогликемического препарата диабенола при однократном введении крысам.

По результатам изучения острой токсичности выявлено, что LD_{50} вещества диабенол на крысах составляет: 2321 мг/кг (1646,27-3273,01) у самок и 2740,91 мг/кг (2017,54-3723,62) у самцов. С учетом классификации токсичности ксенобиотиков по Санюккому И.В. испытуемое соединение можно отнести к разряду малотоксичных. В клинике токсических эффектов отмечено быстрое развитие динамики отравления веществом, гибель животных наступала в интервале первого часа наблюдений, ей предшествовали симптомы: урежение дыхания, акроцианоз, угнетение подвижности, боковое положение, тремор конечностей, клонико-тонические судороги. У крыс, оставшихся в живых, процессы реабилитации токсических эффектов прослеживались в течение последующих 2-3 часов. К концу первых суток наблюдений данные животные могли свободно передвигаться, но реакции на внешние раздражители оставались сниженными. На 2-е и последующие сутки наблюдений поведенческая активность этих животных соответствовала физиологической норме, отдаленной гибели не отмечалось.

Результаты 2-го этапа исследований представлены в таблице 1. Выявлено, что функционально-поведенческий статус животных под действием вещества в различных дозах изменяется неоднозначно. При этом минимально эффективной оказалась доза диабенола равная 2,5 мг/кг. В дальнейшем отмечено, что у животных под влиянием вещества в интервале доз от 2,5 до 20 мг/кг, несколько (на 0,5-1 балла) повышались спонтанная двигательная активность, реакции на прикосновение и боль, а также ректальная температура и частота дыхания. Повышение спонтанной двигательной активности и реакций на раздражители (стук, прикосновение, боль) отмечались и у животных, которым диабенол вводили в дозах от 40 до 160 мг/кг. При этом со стороны вегетативных эффектов у животных фиксировалось понижение ректальной температуры, в среднем на 1-1,5°, птоз, бледность кожных покровов. При введении диабенола крысам в дозах от 320 мг/кг до 2560 мг/кг наблюдались эффекты постепенного дозозависимого угнетения и поведенческих, и нервно-мышечных реакций (нарастала пассивность, снижались тонус конечностей и спонтанная двигательная активность, до полной обездвиженности и принятия животными бокового положения), появлялся тремор, переходящий в клонико-тонические судороги. Со стороны вегетативных эффектов отмечались угнетение дыхания, снижение ректальной температуры, повышение частоты мочеиспусканий и дефекаций, саливации отсутствовали.

На третьем этапе работы по результатам математической обработки данных опыта, была получена интегральная траектория функционально-поведенческих эффектов соединения. Обнаружено, что «дозовая траектория» диабенола проходит поочередно по сектору поведенческих, нервно-мышечных реакций и вегетативных эффектов. Отмечено, что в диапазоне точек I-III (соответствующих дозам от

2,5; до 20 мг/кг), дозовая траектория эффектов находится в секторе поведенческих и вегетативных реакций, из чего можно предположить, что у вещества в дозах 2,5 и 5 мг/кг преимущественно преобладают вегетативные эффекты, обусловленные активацией дыхания, повышением ректальной температуры, тогда как в эффектах вещества в дозах 10 и 20 мг/кг преобладают повышение спонтанной двигательной активности и груминга. В диапазоне точек IV-VI (соответствующих дозам 40 - 160 мг/кг), просматривается изменение поведенческих эффектов соединения, с началом преимущественного его влияния на нервно-мышечные реакции. Причем эффекты диабенола в данном диапазоне доз были приблизительно одинаковы. Резкое смещение дозовой траектории из сектора нервно-мышечных, в сектор вегетативных реакций наблюдается и в точках VII - IX (соответствующих дозам вещества 320 - 1280 мг/кг), что, возможно, свидетельствует о нарастающем токсикодинамическом его влиянии на функционально-поведенческий статус животных (проявляющемся в угнетении подвижности, боковом положении, урежении дыхания, треморе конечностей, клонико-тоническими судорогами).

На основании проведенных исследований, у диабенола был рассчитан терапевтический индекс (ТИ), который оказался равным 512 у.е. При этом предположили, что доза диабенола 5 мг/кг соответствует терапевтически эффективной, проявляющей, как видно на графике, отчетливую фармакологическую активность. В дальнейшем, в интервале терапевтического индекса на интегральной дозовой траектории препарата определили диапазон его безопасного действия, равный 128 у.е. (соответствующий точкам I - VII), и - токсической активности, равный 256 у.е. (дозы от 640 до 2560 мг/кг, которые находятся в точках VIII - X). Как видно из приведенного графика действие диабенола в дозе 160 мг/кг, вероятно, является поворотным, поскольку интегральная дозовая траектория его эффектов резко смещается в секторе нервно-мышечных реакций, что может свидетельствовать об изменении качества влияния препарата на данный спектр активности.

Известно, что поведенческая активность животных, а также нервно-мышечные реакции и вегетативные эффекты находятся под контролем центральных мономин- и холинергических структур [1, 10]. Вследствие этого в токсикологическом профиле диабенола можно предположить наличие центрального вмешательства в данные структуры.

На четвертом этапе работы исследовали эффекты возможного токсического взаимодействия диабенола с агентами, возбуждающими дофаминергические структуры (фенамином) и М- и Н-холинергические структуры (никотином и ареколином). В проведенных экспериментах было отмечено, что у крыс на фоне диабенола в дозе 160 мг/кг, увеличивалась продолжительность фенаминовой стереотипии относительно контроля в 2,5 раза ($p < 0,05$) и укорачивалась длительность двигательного возбуждения на 35% ($p < 0,05$). При этом эффекты ареколины у крыс с диабенолом соот-

Таблица 1

Влияние соединения диабенол на функционально-поведенческий статус крыс

Тестируемые параметры	Норма (баллы)	Исследуемые дозы (мг/кг)									
		2,5	5,0	10,0	20,0	40,0	80,0	160,0	320,0	640,0	1280,0
Поведенческие реакции											
Настороженность	4	4	4	4	4	3,5	3	3	2	0	0
Пассивность	4	3	3	3,5	4	4	4,5	5	5	6	7
Стереотипия	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Беспокойство	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Агрессия	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Грумминг	4	4	4	5	4	4	3,5	3,5	3,5	2	2
Спонтанная двигательная активность	4	4	4,5	4,3	4,5	4,5	4	3,5	3	1	1
Нервно-мышечные реакции											
Реакция на прикосновение	4	4,5	4,5	5	5	5	5	4	4	2	2
Реакция на стук	4	4	4	4	4	4	4,5	4,5	4	3	3
Реакция на боль	4	4	5	5	5	5	4,5	4,5	3	2	2
Тремор	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Судороги	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
Расстройство походки	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Тонус конечностей	4	4	4	4	4	4	4	3,5	3	2	1,5
Симптом Штраубе	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Вегетативные эффекты											
ПМП*	4	4	4	4	4	4	4	3,5	3	2	2
Размер зрачка	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2
Вокализация	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Саливация	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Уринация	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5
Дефекация	4	4	4	4	4	4	4	4	4	6	5
Ректальная температура	4	4,5	4,2	3,6	3	3	3	3	3	3	3
Цвет кожи	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2
Частота дыхания	4	4	4,5	4,5	4	4	4	4	3	2	1,5

* - Положение мигательной перепонки.

ветствовали таковым изменениям в контроле. В серии исследований с никотином, введенного крысам на фоне диабенела в дозе 160 мг/кг, отмечено отчетливое укорочение латентного периода (на 20%, $p < 0,05$) и увеличение продолжительности никотинового гиперкинеза на 55% ($p < 0,05$).

На основании проведенных исследований предположили, что в механизме токсикологической активности диабенела присутствуют элементы активирующего вмешательства в центральные дофаминергические структуры, сочетающиеся с активацией Н-холинергических структур. Полученные результаты также согласуются с результатами прогноза, составленными по функционально-поведенческому профилю

диабенела и, вероятно, являются основополагающими в динамике отравления и гибели животных при исследовании у них острой токсичности.

Выводы

Гипогликемическое соединение диабенол (производное N-9 замещенное бензимидазола) по степени токсичности, относится к разряду малотоксичных веществ с широким диапазоном безопасного действия. LD₅₀ соединения при внутрижелудочном введении крысам соответствует 2560 мг/кг, терапевтический индекс равен 512 у.е.

В интервале терапевтического индекса диапазон безопасной активности диабенела равен 128 у.е. (что соответствует

дозам от 2,5 до 320 мг/кг), диапазон токсического действия равен 256 у.е. (что соответствует дозам от 640 и более).

3. Механизм токсического действия диабенола опосредован активирующим вмешательством в дофаминергические и Н-холинергические структуры.



НОВЫЕ ГИГИЕНИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ

Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г.Г. Онищенко утвердил постановлением от 21.07.2011г. № 103 (зарегистрировано Минюстом России 30 августа 2011 года, регистрационный номер 21710) ГН 2.1.5.2947-11 «**Предельно допустимая концентрация (ПДК) О-(1,2,2триметилпропил) метилфторфосфоната (зомана) в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования**»

Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ПДК, мг/л	Лимитирующий показатель вредности	Класс опасности
О-(1,2,2-триметилпропил) метилфторфосфонат (зоман)	96-64-0	$C_8H_{16}FO_2P$	5,0·10 ⁴	санитарно-токсикологический	1

С момента введения ГН 2.1.5.2947-11 считать утратившими силу ГН 2.1.5.1373-03 «Гигиенические нормативы предельно допустимых концентраций (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования в зонах защитных мероприятий объектов хранения и уничтожения химического оружия», утверждённые постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации Г.Г. Онищенко от 5.06.2003 № 123 (зарегистрировано Минюстом России 11.06.2003, регистрационный № 4682), в части касающейся гигиенического норматива на О(1,2,2триметилпропил)метилфторфосфонат (зоман).

Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г.Г.Онищенко утвердил постановлением от 21.07.2011г. № 104 (зарегистрировано Минюстом России 29 августа 2011 года, регистрационный номер 21706) ГН 2.1.7.2946-11 «**Предельно допустимые концентрации (ПДК) О-(1,2,2триметилпропил)метилфторфосфоната (зомана) и О-изопропилметилфторфосфоната (зарина) в материалах строительных конструкций объектов по уничтожению химического оружия**»

Наименование вещества	№ CAS	Формула	Величина ПДК, мг/кг	Класс опасности
О-(1,2,2-триметилпропил)метилфторфосфонат (зоман)	96-64-0	$C_8H_{16}FO_2P$	0,1	1
О-изопропилметилфторфосфонат (зарин)	107-44-8	$C_5H_{10}FO_2P$	0,4	1