

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review

Научно-практический журнал

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



№ 5 (116), 2012

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Сыроматникова Е.Д., Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., Ильяшенко К.К. Информативность альбуминового флуоресцентного теста в раннем реанимационном периоде в оценке прогноза острых отравлений психотропными препаратами2	
Филатов Б.Н., Чарова Т.А. Нейроэндокринные механизмы формирования патологии у лиц, перенесших острые отравления фосфорорганическими веществами6	
Долгушин М.В., Гуцин А.С., Юшков Г.Г. Влияние изониазида на метаболический статус лимфоцитов и на их склонность к апоптозу, индуцированному гипертермией11	
Гриценко Н.С., Долгих В.Т. Влияние изониазида на сократимость и адренореактивность сердца крысы14	
Цыбульский А.В., Артонов А.А., Попов А.М., Кривошапко О.Н. Оценка органных, гематологических и биохимических проявлений токсичности высоких доз эхинохрома – 1,4-нафтохинонового препарата, полученного из морского ежа <i>scaphechinus mirabilis</i>18	
Лосенкова С.О., Фёдоров Г.Н. Доклиническое токсикологическое изучение трансдермального пластыря с гипоксеном23	
Громова М.С., Крайнова Н.А., Торгонская А.А., Сиголаева Л.В., Рудакова Е.В., Махаева Г.Ф., Еремченко А.В., Курочкин И.Н. Определение холинэстераз крови с использованием высокочувствительного амперометрического биосенсора на основе фермент-полиэлектролитных нанопленок27	
Мошков Н.Е. Площадь ядра ФГА-стимулированного лимфоцита как характеристика его объема. Физический смысл измерения площади клеточного ядра в методах количественной микроскопии37	
Экологическая токсикология	
Федотов А.С. Оценка токсичности разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 для рыб40	
Еськов Е.К., Еськова М.Д., Кирьякулов В.М. Динамика накопления и выведения свинца из организма птицы46	
Поклонов В.А., Котелевцев С.В., Остроумов С.А. О воздействии детергентов на <i>Vigna radiata</i> и <i>Lens culinaris</i> в условиях биотеста49	
Химическая безопасность	
Макарова А.С. «Зеленая» химия – эффективный инструмент снижения риска воздействия химических веществ на здоровье человека и окружающую среду53	
Юбилейные даты56	
Некролог57	

БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ	
Остроумов С.А., Соломонова Е.А. Детергент Liquid Crystal Concentrate (LCC): воздействие на макрофиты <i>Elodea canadensis</i>58	
Хорошилова Н.В., Карпукхина Е.А., Каютина С.В., Ткачева Т.А. Крагерр, КС60	
Карпукхина Е.А., Каютина С.В., Хорошилова Н.В., Ткачева Т.А. Дикамерон гранд, ВДГ60	
Реестр свидетельств о государственной регистрации61	
Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам64	

Syromyatnikova Ye.D., Gryzunov Yu.A., Dobretsov G.Ye., Ilyashenko K.K. Information significance of albumin luminescent test at the early resuscitation stage in the forecast estimation of intoxications by psychotropic preparations2	
Filatov B.N., Charova T.A. Neuroendocrine mechanisms of the pathology development in patients who endured an acute intoxication by organophosphorous agents6	
Dolgushin M.V., Gushchin A.S., Yushkov G.G. Influence of izoniazid on the metabolic status of lymphocytes and their predisposition to hyperthermia-induced apoptosis11	
Gritsenko N.S., Dolgikh V.T. Isoniazid impact on the rat heart contractility and adrenoactivity14	
Tsibulskiy A.V., Artyukov A.A., Popov A.M., Krivoshapko O.N. Estimation of toxicity manifestations in organ, hematological and biochemical indicators at exposure to high doses of echinochrome-1,4 naphthoquinone preparation extracted from sea urchin <i>Scaphechinus mirabilis</i>18	
Losenkova S.O., Fyodorov G.N. Pre-clinic toxicological investigations of a transdermal plaster with hypoxene23	
Gromova M.S., Krainova N.A., Torgonskaya A.A., Sigolayeva L.V., Rudakova Ye.V., Makhaeva G.F., Yeryomenko A.V., Kurochkin I.N. Determination of blood cholinesterases using a highly sensitive amperometric biosensors based on enzyme- polyelectrolyte nanofilms27	
Moshkov N.Ye. Nucleus space in a PHA-stimulated lymphocyte as its volume characteristic. Physical meaning of measuring a cell nucleus space in quantitative microscopy methods37	
Ecotoxicology	
Fedotov A.S. Toxicity evaluation of raw slurry liquetiers and grind intensifiers «Litoplast M», types 3 and 5 for fish40	
Yeskov Ye.K., Yeskova D.M., Kiryakulov V.M. Dynamics of accumulation and elimination of lead from the birds organism46	
Poklonov V.A., Kotelevtsev S.V., Ostroumov S.A. Exposure of <i>Vigna radiata</i> and <i>Lens culinaris</i> to detergents in biotests49	
Chemical Safety	
Makarova A.S. «Green» chemistry- an effective tool of ensuring the reduction of chemicals risk to human health and the environment53	
Anniversaries56	
Obituary57	

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

News on toxicity and hazard of chemical and biological substances	
Ostroumov S.A., Solomonova Ye.A. Detergent Liquid Crystal Concentrate (LCC): effects on macrophytes <i>Elodea Canadensis</i>58	
Khoroshilova N.V., Karpukhina Ye.A., Kayutina S.V., Tkachyova T.A. Crater. CS60	
Karpukhina Ye.A., Kayutina S.V., Khoroshilova N.V., Tkachyova T.A. Dikameron-grand-vgd60	
Register of state registration certificates61	
New publications on toxicology and related disciplines64	

Информативность альбуминового флуоресцентного теста в раннем реанимационном периоде в оценке прогноза острых отравлений психотропными препаратами

Сыромятникова Е.Д.,
Грызунов Ю.А.,
Добрецов Г.Е.,
Ильяшенко К.К.

ФГУ НИИ физико-химической медицины ФМБА России,
НИИ скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского,
г. Москва

Проведена сравнительная оценка информативности лабораторных показателей эндотоксикоза и альбуминового флуоресцентного теста в отношении прогноза острого отравления психотропными препаратами. Обследованы 513 больных с различной тяжестью отравления. Исследовали гематологические, биохимические показатели крови, измеряли концентрацию молекул средней массы и проводили альбуминовый флуоресцентный тест по двум показателям: эффективная концентрация альбумина (ЭКА) и общая концентрация альбумина (ОКА). Проведенные исследования показали, что альбуминовый флуоресцентный тест, выявляющий конформационные изменения в молекуле альбумина, является наиболее информативным показателем в раннем реанимационном периоде острых отравлений психотропными препаратами для выделения больных с повышенным риском неблагоприятного исхода заболевания.

Ключевые слова: острые отравления, психотропные препараты, показатели эндотоксикоза, эффективная концентрация альбумина.

Введение. В структуре острых заболеваний химической этиологии около 61% составляют острые отравления психотропными препаратами. Тяжесть состояния больных, течение и исход заболевания зависят не только от экзотоксикоза, но и от развивающегося эндотоксикоза [11, 16, 17].

Эндотоксикоз часто приводит к развитию осложнений, органной и полиорганной недостаточности, которые и являются главной причиной смертности больных. При развитии пневмоний летальность достигает 42% [15]. Поиск и использование в клинической практике простых, доступных и информативных лабораторных критериев, позволяющих объективно оценивать состояние больного и динамику заболевания, актуальная задача клинической токсикологии и реаниматологии [6, 11, 16].

В связи с этим большой интерес представляет анализ лабораторных показателей с целью определения наиболее информативных из них в отношении прогноза заболевания. Наряду с широко известными показателями эндотоксикоза такими как мочевины, креатинин, билирубин, вещества средней молекулярной массы, в последние годы большое значение приобрело изучение связывающих свойств альбумина крови. Благодаря разработкам НИИ физико-химической медицины МЗ РФ в клинической практике стал использоваться флуоресцентный тест, позволяющий прямо в сыворотке крови оценивать и концентрацию альбумина, и свойства его связывающих центров, т.е. его физико-химические свойства, в частности, способность обратимо связывать и переносить низкомолекулярные гидрофобные и амфифильные вещества. В этом тесте определяют два показателя: «общая концентрация альбумина» (ОКА, г/л), соответствующая концентрации альбумина, измеряемой унифицированными биохимическими методами, и показатель «эффективная концентрация альбумина» (ЭКА, г/л), зависящий не только от содержания альбумина, но и от свойств его связывающих центров [8, 13]. При критических состояниях, при острых воспалительных заболеваниях органов брюшной полости, изменения связывающих центров альбумина служат высоко информативными критериями для оценки тяжести состояния больных [1, 7, 9, 10, 18].

Целью данной работы явилась сравнительная оценка информативности гематологических, биохимических параметров крови и показателей альбуминового флуоресцентного теста в раннем реанимационном периоде в отношении прогноза летальности при острых отравлениях психотропными препаратами.

Материалы и методы исследования. Исследование было моноцентровым, ретроспективным. Проанализированы 513 историй болезней больных с различной тяжестью острых отравлений психотропными препаратами, госпитализированных в отделение лечения острых отравлений НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Возраст пациентов от 16 до 80 лет. Из них 442 (86,2 %) больных имели благоприятный исход заболевания и 71 (13,8 %) больной умер. Клиническую оценку состояния проводили в соответствии с классификацией Е.А. Лужникова (1999г.) [14]. Все больные находились на интенсивной терапии, применяемой в стационаре.

Лабораторное обследование больных проводили при поступлении в стационар, на первые и третьи сутки на фоне проводимого комплексного лечения. Определяли следующие показатели: концентрацию гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов, с подсчетом лейкоцитарной формулы крови, скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Биохимический анализ сыворотки крови включал определение общего белка, мочевины, креатинина, билирубина и его фракций, глюкозы, амилазы, уровня среднемoleкулярных пептидов фракции 254 (СМП₂₅₄) и фракции 280 (СМП₂₈₀) и их соотношения (280/254) [3], концентрацию некротических субстанций (НС) [20].

Флуоресцентное исследование сывороточного альбумина включало определение эффективной концентрации альбумина (ЭКА) и общей концентрации альбумина (ОКА) [8]. Измерения проведены на клиническом флуориметре АКЛ-01 наборами реактивов «Зонд – Альбумин» (НИМВЦ «Зонд» Россия) в соответствии с инструкцией к набору. По результатам измерений рассчитывали: отношение ЭКА/ОКА, индекс токсичности ИТ = (ОКА/ЭКА) – 1 [8], а также индекс эндотоксической интоксикации ИЭИ = (СМП₂₅₄/ЭКА) · 1000 [4, 19, 22].

Обработку данных проводили с использованием прикладных программ Excel 5.0 и Statistica for Windows v. 6. Различия между группами обследованных больных оценивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни и параметрического критерия Стьюдента.

Показатели прогностической ценности тестов – частоту летального исхода PV(+) в группе неблагоприятного прогноза и частоту выздоровления PV(–) в группе больных с благоприятным прогнозом – рассчитывали согласно рекомендациям Флетчера Р. и соавторов [21], чем ближе эти частоты к 100 %, тем выше точность прогноза. Построение доверительных интервалов для частот проводили в предположении их би-

номинального распределения по формулам, предложенным Глотовым Н.В. и соавторами [5]. Достоверность различий между распределениями определяли с использованием двусторонних критериев. Степень перекрытия распределений показателей оценивали с помощью индекса Эгона-Кларка $d = 2 \cdot (M1-M2)/(SD1+SD2)$, где $M1, M2$ – средние значения, а $SD1, SD2$ – стандартные отклонения распределений данных в группах 1 и 2, соответственно [2]. Граничные значения показателей, разделяющих благоприятный и неблагоприятный прогноз, были приняты следующими: рутинные лабораторные показатели – в соответствии с референтными значениями; флуоресцентный тест: неблагоприятный прогноз в случае ЭКА < 23 г/л и/или ОКА < 35 г/л [9, 18].

Из измеренных показателей были исключены те, для которых не наблюдали достоверных различий ($p < 0,05$) между распределениями в группах выживших и умерших пациентов. Достоверные различия между группами выживших и умерших больных были обнаружены только для пяти показателей: концентрации мочевины и креатинина сыворотки, ЭКА, ОКА и СОЭ (табл. 1). Эти параметры использовали для дальнейшего анализа.

Расчет прогностической ценности показателей. Для показателей ЭКА, ОКА, СОЭ, концентраций креатинина и мочевины, у которых разница среди выживших и умерших пациентов оказалась достоверной ($p < 0,05$), были выбраны граничные значения так, чтобы частота правильных прогнозов была максимальной. Критериями неблагоприятного прогноза в данном исследовании являлись следующие граничные значения: ЭКА < 23 г/л, ОКА < 35 г/л, концентрация мочевины сыворотки > 8,3 ммоль/л, концентрация креатинина сыворотки > 125 мкмоль/л, СОЭ > 25 мм/час.

Для оценки прогностической ценности каждого показателя, то есть его способности выделить группу с пониженной и группу с повышенной вероятностью летального исхода, поступали следующим образом. При помощи граничного значения выделяли группу больных с прогностически неблагоприятным течением заболевания. Некоторые из этих больных впоследствии умерли, другие – выжили. Прогностическую ценность неблагоприятного результата теста рассчитывали как частоту (в процентах) летального исхода в группе неблагоприятного прогноза PV(+) по формуле:

$PV(+) = (a/b) \cdot 100\%$, где a – число летальных исходов в группе больных с прогностически неблагоприятным значением показателя;

b – общее число больных с прогностически неблагоприятным значением показателя в обследованной группе.

Прогностическую ценность благоприятного результата теста рассчитывали как частоту (в процентах) благоприятного исхода в группе благоприятного прогноза PV(-) по формуле:

$PV(-) = (c/d) \cdot 100\%$, где c – число выживших больных в группе с отрицательным значением теста, то есть с благоприятным прогнозом,

d – общее число больных с прогностически благоприятным значением показателя в обследованной группе.

Шансы выжить при негативном результате теста рассчитывали, как $Ch(+) = (100 - PV(+)) / PV(+)$

Шансы выжить при позитивном результате теста рассчитывали, как $Ch(-) = (100 - PV(-)) / PV(-)$.

Отношение правдоподобия (LR) – это отношение шансов выжить при позитивном результате теста к шансам выжить при негативном результате теста: $LR = Ch(-) / Ch(+)$. Чем выше величина LR, тем лучше данный показатель выделяет группу повышенного риска неблагоприятного течения заболевания.

Результаты и их обсуждение. Лабораторный показатель можно считать прогностически ценным, если по результатам его измерения удастся выделить группу больных с повышенной по отношению к наблюдаемой группе в целом вероятностью неблагоприятного исхода болезни, т.е. выделить группу повышенного риска.

В качестве исходной информации рассматривали летальность у обследованных больных. Из 513 пациентов 71 больной умер, т.е. априорная вероятность летального исхода составила 13,8%. Из 513 больных 183 пациента имели легкую степень отравления, в этой группе не было летальных исходов. В группе из 330 больных средней и тяжелой степени отравления наблюдался 71 случай летального исхода (22 %).

Для определения информативности показателей в отно-

шении исхода заболевания рассчитывали отношение правдоподобия (LR) каждого параметра. Из табл. 2 следует, что лабораторные показатели, исследованные при поступлении больных в стационар, независимо от тяжести их состояния, были слабо связаны с исходом заболевания. Через сутки максимальное отношение правдоподобия (7,4) обнаружено у показателя ЭКА. Это позволяет сделать вывод о целесообразности его использования для объективной оценки течения болезни и прогноза исхода отравления у конкретного пациента. Рис.1 демонстрирует гистограммы результатов измерения ЭКА пациентов в первые сутки заболевания, которые показывают, что при неблагоприятном исходе гистограмма сдвинута в область низких значений ЭКА по отношению к гистограмме выживших больных.

На третьи сутки наблюдения отношение правдоподобия ЭКА оставалось на высоких цифрах (табл. 2), хотя было ниже предыдущего измерения и ниже отношений правдоподобия СОЭ (LR=8,2), мочевины (LR=7,4) и креатинина (LR=7,4). Это, на наш взгляд, можно объяснить развитием в эти сроки осложнений, таких как пневмония [11], энцефалопатия [12], полиорганная недостаточность, усугубляющих тяжесть эндотоксикоза, характеризующуюся повышением содержания в крови мочевины и креатинина.

Выводы. Проведенные исследования показали, что альбуминовый флуоресцентный тест, выявляющий конформационные изменения в молекуле альбумина, является наиболее информативным показателем в раннем реанимационном периоде острых отравлений психотропными препаратами для выделения больных с повышенным риском неблагоприятного исхода заболевания.

Таблица 1

Лабораторные показатели больных с острыми отравлениями психотропными препаратами в раннем реанимационном периоде ($M \pm m$).

Показатели	Группы больных	Поступление в стационар	1 сутки	3 сутки
ЭКА, г/л	выжившие	35 ± 1*	36 ± 1*	31 ± 1*
	умершие	30 ± 2	23 ± 2	23 ± 2
ОКА, г/л	выжившие	39 ± 1*	40 ± 1*	37 ± 1*
	умершие	34 ± 2	30 ± 2	29 ± 3
СО ₂ , мм/час	выжившие	15 ± 1	22 ± 2*	38 ± 2*
	умершие	25 ± 9	36 ± 4	61 ± 3
Креатинин, мкмоль/л	выжившие	111 ± 4	122 ± 7*	123 ± 8*
	умершие	127 ± 10	146 ± 9	172 ± 14
Мочевина, ммоль/л	выжившие	6,6 ± 0,3*	6,5 ± 0,3*	7,7 ± 0,8*
	умершие	8,0 ± 0,7	9,0 ± 0,7	15 ± 2

Примечание: * p < 0,05 при сравнении групп выживших и умерших больных; 134 больных с благоприятным исходом заболевания, 33 больных с летальным исходом

Таблица 2

Прогностическая значимость показателей эндотоксикоза в раннем реанимационном периоде острых отравлений психотропными препаратами

Показатель	Отношение правдоподобия LR		
	поступление в стационар	первые сутки	третьи сутки
ЭКА, г/л	3,0	7,4	6,3
ОКА, г/л	1,3	4,5	3,6
Креатинин, мкмоль/л	2,8	2,8	7,4
Мочевина, ммоль/л	1,4	4,1	7,4
СО ₂ , мм/час	1,4	3,1	8,2

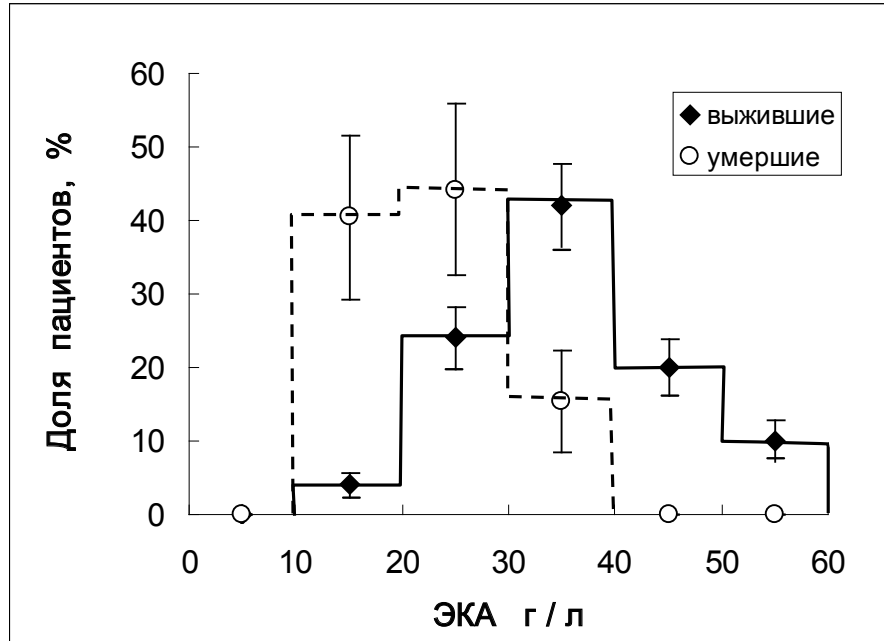


Рис.1. Гистограммы распределения пациентов по величине ЭКА в первые сутки госпитализации.
Примечание: сплошная линия – выжившие больные, прерывистая линия – пациенты с летальным исходом. Указаны средние квадратичные отклонения данных от средней величины

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афанасьева А.Н., Евтушенко В.А. Клиническое значение определения альбуминовых показателей у онкологических больных // *Анестезиология и реаниматология*. - 2004. - № 6. - С.64 – 68.
2. Власов В.В. Эффективность диагностических исследований. М. «Медицина», 1988, 320 стр.
3. Габриэлян Н.И., Дмитриева А.А., Севастьянова О.А. Средние молекулы и уровень эндогенной интоксикации у реанимационных больных // *Анестезиология и реаниматология*. - 1985. - № 1. - С.36 -38.
4. Гаврилов В.Б., Бидула М.М., Фурманчук Д.А. Снижение эффективной концентрации альбумина как индикатор дисбаланса между накоплением и связыванием токсинов в плазме крови при эндогенной интоксикации // В кн. «Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Книга 2.» - М.: ГЭОТАР. - 1998. С.132 – 139.
5. Глотов Н.В., Животовский Л.А., Хованов Н.В., Хромов-Борисов Н.Н. Биометрия. Изд-во Ленингр. Ун-та, Л.: 1982.
6. Гольдфарб Ю.С., Ельков А.Н., Марупов А.М. Количественная оценка выраженности эндотоксикоза при острых экзогенных отравлениях // *Матер.2-го съезда токсикологов России*. - М. - 2003. - С. 327 – 328.
7. Гринберг А.А., Грызунов Ю.А., Черныш Т.И., Добрецов Г.Е., Игнатова Т.П. Новый подход к раннему прогнозу течения перитонита // *Анналы хирургии* 1999, № 4, С.21-25
8. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. (ред.) Альбумин сыворотки крови в клинической медицине М: Изд-во Ириус, 1994, 226 стр.
9. Грызунов Ю.А., Гринберг А.А., Ступин В.А., Родман Г.В. и соавт. Информативность показателя «эффективная концентрация альбумина» при распространенном перитоните.

Данные многоцентрового исследования // *Анестезиология и реаниматология*, 2003, №6, С.32-36.

10. Забусов А.В., Жбанников П.С., Фролов А.Н. Возможности альбуминового флуоресцентного теста в оценке тяжести эндогенной интоксикации // 2 –я межрегиональная науч.-практ. конф. «Актуальные вопросы анестезиологии и реаниматологии». - Елец, – 2002. – С. 118 -119.
11. Ильяшенко К.К., Лужников Е.А. Токсическое поражение дыхательной системы при острых отравлениях // М., ИД МЕДПРАКТИКА-М, – 2004. – 176 с.
12. Леженина Н.Ф., Лужников Е.А., Голиков П.П., Гольдфарб Ю.С., Матвеев С.Б., Федорова Н.В., Белова М.В., Каштанова И.С. Изменения параметров гомеостаза при формировании токсикогипоксической энцефалопатии у больных с острыми отравлениями нейротоксическими веществами // *Матер.Всерос. научной конф. «Фармакотерапия гипоксии и ее последствий при критических состояниях»*. – СПб., 2004. - С. 80 – 82.
13. Лопухин Ю.М., Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А. Конформационные изменения молекулы альбумина – новый тип реакции на патологический процесс // *Бюл. экпер. биол. мед.* – 2000. - Т.130. - №7. - С. 4 – 8.
14. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. М: Медицина, 1999.
15. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Муслилиус С.Г. Детоксикационная терапия. Руководство для врачей. Изд. «Лань», СПб, 2000, 192 с.
16. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Марупов А.М. Особенности диагностики и лечения синдрома эндотоксикоза при острых отравлениях химической этиологии // *Анестезиология и реаниматология*. – 2002. – №2. – С.9 – 14.
17. Остапенко Ю.Н., Литвинов Н.Н., Хонелидзе Р.С., Гасимова З.М. Острые химические

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (окончание)

- отравления как один из ведущих факторов заболеваемости населения Российской Федерации. // Матер. 2-го съезда токсикологов России., М., 2003.-С. 393 – 394.
18. Родоман Г.В., Шалаева Т.И., Добрецов Г.Е., Коротаев А.Л. Прогноз течения гнойно-воспалительных хирургических заболеваний брюшной полости с помощью флуоресцентного теста на альбумин //Вестник хирургии им. И.И. Грекова (С-Пб) Т.158, 1999, С.42-45
19. Сыромятникова Е.Д. Показатель дисбаланса процесса детоксикации в организме // Клин. лаб. диагностика.-1999.-№ 9.-С.27-28.
20. Сыромятникова Е.Д., Лужников Е.А., Маткевич В.А., Гольдфарб Ю.С., Ильяшенко К.К., Каштанова И.С., Рожков П.Г., Тамбовцев В.В., Седунов Ф.Б., Ельков А.Н. Некротические субстанции как маркер оценки эффективности детоксикации организма методом кишечного лаважа у больных с острыми отравлениями // Клин. лаб. диагностика.-2002.-№ 10.-С.44.
21. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. Изд-во Медиа Сфера, Москва, 1998.
22. Afanasjeva A.N.//28-th Nordic Congress Clinical Chemistry, Molecular Medicine 2002.- Reykjavik, 2002. – P.157-158.

Syromyatnikova Ye.D., Gryzunov Yu.A., Dobretsov G.Ye., Ilyashenko K.K.

Information significance of albumin luminescent test at the early resuscitation stage in the forecast estimation of intoxications by psychotropic preparations

Institute of Physico-Chemical Medicine, Federal Medico-Biological Agency of Russia, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medical Care, Moscow

A comparative estimation of the information significance of endotoxiosis indicators and albumin luminescent test in forecasting results of acute intoxication by psychotropic preparations was carried out. 513 patients with different severity of poisoning were examined. Blood hemotological and biochemical indicators were evaluated; concentrations of molecules of average mass were measured and albumin luminescent test was performed for two indicators: effective albumin concentration (EAC) and general albumin concentration (GAC). Investigations conducted revealed that the albumin luminescent test showing conformational changes in albumin molecules proved to be the most informative among indicators under investigation at the early resuscitation stage to detect patients with elevated risk of unfavorable outcome of the disease.

Материал поступил в редакцию 25.11.2011 г.

УДК 616.831-099; 623.459

Нейроэндокринные механизмы формирования патологии у лиц, перенесших острые отравления фосфорорганическими веществами

Филатов Б.Н.,
Чарова Т.А.

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профилактиологии» (ФГУП «НИИ ГТП») ФМБА России, г. Волгоград

С целью выявления роли нейрогормональных нарушений в развитии психоневрологических последствий острых интоксикаций ФОВ у 125 работников бывшего производства химического оружия нервно-паралитического действия Волгоградского открытого акционерного общества «Химпром» (ВАО «Химпром») изучено функциональное состояние коры надпочечников, щитовидной железы, симпатoadреналовой системы. Регистрируемые однотипные гормональные нарушения у больных, как с органическими, так и функциональными поражениями нервной системы, дают основание считать, что в основе их лежит общий механизм формирования ответной реакции регулирующей системы на изменение внутренней среды.

Ключевые слова: зарин, зоман, нейрогормональные нарушения, отдаленные последствия

Введение. Проблема отдаленных последствий острых отравлений фосфорорганическими соединениями является актуальной в промышленной гигиене и клинической токсикологии, так как затрагивает не только медико-биологические вопросы,

но и социально-правовые аспекты. Ее актуальность к настоящему времени приобретает особое значение в связи с производственным процессом уничтожения химического оружия нервно-паралитического действия, поскольку при самом стро-

гом соблюдении мер безопасности нельзя исключить риск взаимодействия персонала с фосфорорганическими отравляющими веществами (ФОВ), являющимися чрезвычайно токсичными и опасными химическими веществами. Кроме боевых отравляющих веществ синтезировано и продолжает синтезироваться большое количество фосфорорганических соединений с антихолинэстеразным механизмом действия «мирного» назначения, широко используемых в технике, в быту и сельском хозяйстве, контакт с которыми (или передозировка) может стать причиной, как единичных случаев отравлений, так и массовых поражений [2, 5, 9].

Необходимо отметить, что к настоящему времени не решен вопрос об основных звеньях патогенеза отдаленных психоневрологических последствий острых отравлений заринном и зоманом. Роль антихолинэстеразного эффекта ФОВ в развитии острых отравлений доказана убедительно [3, 12, 15]. Однако развитие у пострадавших психоневрологических последствий спустя ряд лет после острой интоксикации нельзя объяснить лишь этим фактором. Как показывает наш опыт наблюдения за лицами, перенесшими острые отравления заринном и зоманом на бывших производствах ФОВ, у большинства рабочих (90,6%) развились отдаленные психоневрологические последствия [1]. Проводимая антидотная терапия в начальном периоде острого отравления была эффективной, однако, не обеспечила профилактики отдаленных последствий. Антидотная терапия, играя существенную роль в профилактике необратимости патологического процесса в токсикогенной фазе, не оказывает профилактического эффекта при формировании данного процесса в соматогенной фазе [11]. Можно предположить, что антихолинэстеразный механизм действия ФОВ, сыграв ведущую роль в развитии клиники острого отравления, выступает в роли пускового фактора, который вызывает определенные нарушения в центральной нервной системе, затрагивая связи с эндокринной системой, главная роль которой заключается в регуляции обменных процессов и поддержании состояния равновесия в организме [4, 6, 14].

Материалы и методы исследования. С целью выявления роли нейрогормональных нарушений в развитии психоневрологических последствий острых интоксикаций ФОВ у 125 работников бывшего производства химического оружия нервно-паралитического действия Волгоградского открытого акционерного общества «Химпром» (ВАО «Химпром») изучено функциональное состояние коры надпочечников, щитовидной железы, симпатoadренальной системы. В зависимости от степени тяжести поражения центральной нервной системы пациенты, перенесшие острые поражения ФОВ, были разделены на три группы: I – лица с токсической энцефалопатией (56 человек), II – с астеноорганическим синдромом (25 человек) и III – с функциональными нарушениями в виде астеновегетативного, астеноневротического синдромов, вегетососудистой дистонии (44 человека).

Для оценки функционального состояния коры надпочечников определяли содержание суммарных, свободных и связанных с белком 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови по методу Л.В. Павлихиной и 17-кетостероидов (17-КС) в моче по модифицированному методу Циммермана [7, 13]. Состояние катехоламинового обмена у пациентов оценивали по уровню суточной экскреции с мочой адреналина (А), норадrenalина (НА), диоксифенилаланина (ДОФА) флюориметрическим методом по Э.Ш. Матлиной и соавт., что позволяло судить об интенсивности процессов биосинтеза катехоламинов и о резервных возможностях симпатoadренальной системы [7, 10]. Функциональное состояние щитовидной железы оценивали при помощи радиоиммунологического анализа (РИА) уровня тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3) в сыворотке крови с помощью стандартных тест-наборов [7, 16]. В качестве нуклида в них использован J^{125} как гамма-излучатель с периодом полураспада 56 дней и энергией 0,03 КэВ. Радиометрия проб проведена на гамма-счетчике «Гамма-1». Все исследования выполнены дуплетом.

Анализ полученных показателей проводили в зависимости от группы исследования, а также с учетом преобладающего синдрома в клинике отдаленных психоневрологических последствий острых отравлений заринном или зоманом при поступлении больных в стационар и после проведенного лечения. Контрольную группу по лабораторным методам исследования составляли 50 практически здоровых человек, не имеющих достоверных различий по полу и возрасту от лиц основной группы обследования. Полученные данные обрабо-

таны методом вариационной статистики, достоверность различий определяли с использованием критерия t Стьюдента [8].

Результаты и их обсуждение. Исходя из представления о регулирующих системах, их единстве у обследуемых больных изучено функциональное состояние коры надпочечников, щитовидной железы, симпатoadренальной системы, гормоны и медиаторы которых осуществляют регуляцию многих жизненных процессов и обеспечивают формирование защитно-приспособительных механизмов организма [4, 6, 7, 14]. Результаты проведенных исследований показали, что среднее содержание суммарных и связанных с белком 11-ОКС в крови у больных с отдаленными психоневрологическими последствиями острых отравлений заринном или зоманом было достоверно меньше, чем у лиц контрольной группы (табл. 1). Изменение уровня свободных 11-ОКС в крови было недостоверным. В крови больных определялось снижение концентрации тироксина, трийодтиронина (табл. 2). Выделение 17-КС с мочой у обследованных больных существенно не отличалось от группы контроля, а экскреция адреналина и норадrenalина с мочой оставалась достоверно пониженной (табл. 3). Выделение ДОФА с мочой у лиц с органическими поражениями центральной нервной системы (I и II группы), напротив, было повышено.

Таблица 1

Содержание гормонов коры надпочечников в крови и моче у больных с отдаленными психоневрологическими последствиями острого отравления заринном или зоманом, $M \pm m$

Гормоны коры надпочечников	Группы больных				Группа контроля n=50	
	I n=56	II n=25	III n=44	I – III n=125		
11-ОКС суммарные, мкг/л	$89 \pm 5,7^*$ $96 \pm 3,0^*$	$77 \pm 5,9^*$ $94 \pm 3,0^*$	$80 \pm 4,7^*$ $102 \pm 2,0^*$	$82 \pm 5,3^*$ $97 \pm 3,0^*$	162 ± 6,0	
11-ОКС связанные с белком, мкг/л	$68 \pm 3,0^*$ $76 \pm 3,0^*$	$59 \pm 4,0^*$ $75 \pm 2,0^*$	$63 \pm 4,0^*$ $82 \pm 5,0^*$	$60 \pm 3,0^*$ $78 \pm 3,0^*$	134 ± 6,0	
11-ОКС свободные, мкг/л	$21 \pm 2,0$ $20 \pm 2,0$	$19 \pm 4,0$ $19 \pm 1,0$	$17 \pm 2,0$ $20 \pm 3,0$	$19 \pm 3,0$ $20 \pm 2,0$	21 ± 2,0	
11-ОКС свободные	x100%	$25,9 \pm 1,9^*$ $21,0 \pm 1,2^*$	$24,6 \pm 2,1^*$ $20,1 \pm 1,1^*$	$21,2 \pm 2,3^*$ $19,8 \pm 1,3^*$	$24,0 \pm 2,1^*$ $20,3 \pm 1,2^*$	12,9 ± 2,1
11-ОКС суммарные		17-КС, мкмоль/сут. (мужчины)	$46,1 \pm 0,6$ $43,6 \pm 1,3$	$39,1 \pm 0,6^*$ $35,0 \pm 2,0^*$	$44,7 \pm 1,0$ $45,4 \pm 0,6$	
17-КС, мкмоль/сут. (женщины)	$34,3 \pm 0,6$ $32,5 \pm 0,6$	$32,2 \pm 0,3$ $31,2 \pm 0,3$	$33,2 \pm 1,0$ $33,9 \pm 1,0$	$33,2 \pm 0,6$ $32,5 \pm 0,6$	32,5 ± 1,0	

Примечания: здесь и далее: 1. В числителе данные до лечения, в знаменателе – после лечения;
2. + – достоверно при $p < 0,05$ в сравнении с исходными данными;
3. * – достоверно при $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

Снижение концентрации суммарных 11-ОКС в крови больных обусловлено уменьшением фракции связанной с белком. Последнее можно объяснить нарушением у больных белковосинтетической и ферментативной функции печени. Этот фактор имеет существенное значение в нарушении функции транскортина, играющего важную роль в транспорте гормона и роль регулятора содержания его биологически активной фракции. Однако повышение доли свободной фракции в суммарных 11-ОКС свидетельствует, что в организме нерационально тратится биологически активная форма гормона.

Отмечая у больных снижение экскреции катехоламинов с мочой, следует подчеркнуть, что выявленные изменения носят не только характер количественных нарушений. В деятельности симпатoadреналовой системы выявляется нарушение биологического равновесия ее звеньев в сторону преобладания гормонального звена, что подтверждается анализом показателей коэффициента А/НА. Уменьшение показателя коэффициента НА/ДОФА указывает, что затруднения в биосинтезе катехоламинов идут на уровне синтеза норадреналина. Наряду с этим, повышение показателя коэффициента ДОФА/А+НА и содержания ДОФА в моче свидетельствует, что резервные возможности синтеза катехоламинов у больных сохранены.

Оценка функционального состояния коры надпочечников, щитовидной железы, симпатoadреналовой системы у обследуемых больных выявила определенную зависимость гормональных нарушений от преобладающего синдрома в клинике отдаленных психоневрологических последствий острого от-

равления. Значительное уменьшение суммарных и связанных с белком 11-ОКС, тироксина, трийодтиронина в крови выявлено у больных с преобладанием в клинике астеновегетативного компонента, астеноневротического синдрома, вегетососудистой дистонии. У них же зафиксированы более низкие концентрации адреналина, норадреналина в моче. Причем, у больных с вегетососудистой дистонией или астеновегетативным синдромом в деятельности симпатoadреналовой системы преобладает гормональное звено, о чем свидетельствует оценка показателей коэффициента А/НА.

Проведенное лечение лекарственными комплексами, включающими психотропные препараты, средства, улучшающие метаболические процессы в клетках головного мозга и нормализующие мозговое кровообращение, действующими на гормонально-гуморальные процессы, способствовало улучшению функциональной активности эндокринных желез. У больных достоверно повысилось содержание суммарных и связанных с белком 11-ОКС в крови, более выраженное у лиц с функциональными поражениями центральной нервной системы, тироксина, трийодтиронина, улучшились белковосинтетическая и ферментативная функции печени. В суммарных 11-ОКС уменьшилась доля свободной фракции. Экскреция адреналина и норадреналина с мочой достоверно повышалась, а ДОФА – приближалась к данным группы контроля у больных с органическими поражениями центральной нервной системы и практически нормализовалась у лиц с функциональными нарушениями. Динамика отмеченных показателей способствовала выравниванию активности обо-

Таблица 2

Показатели уровня гормонов щитовидной железы в крови у больных с отдаленными психоневрологическими последствиями острого отравления заринном или зоманом, $M \pm m$

Группы обследованных	T_3 , нмоль/л		T_4 , нмоль/л	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
I (n=56)	0,7±0,05*	*1,0±0,11*	37,7±0,72*	*49,3±2,72*
II (n= 25)	0,7±0,58	0,97±0,54	42,3±5,40*	54,5±4,75*
III (n=44)	0,7±0,02*	*1,0±0,01*	37,7±1,23*	*52,1±3,45*
I – III (n=125)	0,7±0,22*	0,99±0,22*	39,2±2,45*	*51,9±3,64*
Группа контроля n=50	1,6±0,003		105,0±2,25	

Таблица 3

Показатели концентрации катехоламинов в моче у больных с отдаленными психоневрологическими последствиями острого отравления заринном или зоманом, $M \pm m$

Катехоламины мочи (нмоль/сут.), коэффициенты	Группы обследованных				
	I n=56	II n=25	III n=44	I – III n=125	Группа контроля n=50
Адреналин	$\frac{20,2 \pm 1,0^*}{21,8 \pm 1,6^*}$	$\frac{16,3 \pm 1,0^*}{24,0 \pm 2,7}$	$\frac{16,9 \pm 0,5^*}{26,2 \pm 2,7}$	$\frac{18,0 \pm 1,0^*}{24,0 \pm 2,1}$	31,1 ± 3,2
Норадреналин	$\frac{44,3 \pm 2,3^*}{50,8 \pm 2,3^*}$	$\frac{28,3 \pm 1,7^*}{60,8 \pm 2,9^*}$	$\frac{35,4 \pm 1,7^*}{77,4 \pm 2,9}$	$\frac{36,0 \pm 1,7^*}{63,2 \pm 2,3^*}$	86,2 ± 7,0
ДОФА	$\frac{231,1 \pm 14,4^*}{190,6 \pm 13,6}$	$\frac{239,8 \pm 18,2^*}{204,3 \pm 13,1}$	$\frac{186,0 \pm 12,1}{186,0 \pm 13,6}$	$\frac{219,0 \pm 14,1^*}{193,1 \pm 13,1}$	183,0 ± 10,6
A/HA	$\frac{0,45 \pm 0,02^*}{0,42 \pm 0,03}$	$\frac{0,57 \pm 0,04^*}{0,39 \pm 0,03}$	$\frac{0,47 \pm 0,02^*}{0,33 \pm 0,03}$	$\frac{0,50 \pm 0,03^*}{0,37 \pm 0,05}$	0,36 ± 0,03
HA/ДОФА	$\frac{0,19 \pm 0,05^*}{0,26 \pm 0,02^*}$	$\frac{0,11 \pm 0,04^*}{0,25 \pm 0,02^*}$	$\frac{0,19 \pm 0,05^*}{0,41 \pm 0,02}$	$\frac{0,16 \pm 0,04^*}{0,32 \pm 0,02^*}$	0,47 ± 0,03
ДОФА/A+HA	$\frac{3,58 \pm 0,5^*}{2,62 \pm 0,5}$	$\frac{5,37 \pm 0,5^*}{2,80 \pm 0,3^*}$	$\frac{3,55 \pm 0,3^*}{1,79 \pm 0,4}$	$\frac{4,05 \pm 0,4^*}{2,21 \pm 0,3}$	1,56 ± 0,5

их звеньев симпатoadреналовой системы у больных. Отмечая положительную динамику функционального состояния надпочечников, симпатoadреналовой системы, щитовидной железы в процессе лечения, следует подчеркнуть, что она была особенно выражена у лиц с астенией, астеновегетативными, невротическими компонентами, вегетососудистой дистонией. Положительные гормональные и медиаторные изменения сочетались с положительной динамикой клинических симптомов последствий острого отравления. У больных снизилась эмоциональная лабильность, уменьшилась выраженность физической и психической астении, невротических и вегетативных расстройств, вегетососудистой дистонии, улучшился сон, отдельные показатели сердечно-сосудистой системы, липидный обмен.

Итак, общая закономерность реагирования клинических и гормональных показателей на проводимое лечение указывает на их взаимосвязь и взаимообусловленность, что обосновыва-

ет наличие патогенетической связи между функциональными нарушениями глюкокортикоидной функции надпочечников, симпатoadреналовой системы, щитовидной железы и формированием у больных особенностей клиники последствий острого отравления заринном или зоманом. Регистрируемые однотипные гормональные нарушения у больных, как с органическими, так и функциональными поражениями нервной системы, дают основание считать, что в основе их лежит общий механизм формирования ответной реакции регулирующей системы на изменение внутренней среды. Можно предположить, что возникшие после химической травмы нарушения высших корковых функций затрагивают нейрогормональные образования головного мозга – гипоталамо-гипофизарную область. Последняя оказывает влияние на функционирование желез второго порядка. Возникнув как ответ на химическую травму, впоследствии их реакция становится приспособительным механизмом, позволяющим организму существовать

в условиях формирования патологии. Этот же механизм обуславливает формирование особенностей клиники отдаленных последствий. Снижение глюкокортикоидной функции надпочечников приводит к выпадению активирующей роли глюкокортикоидов и угнетению синтеза катехоламинов. Угнетение симпатической медиации приводит щитовидную железу в гипотиреоидное состояние.

Выводы. В механизме формирования отдаленных психоневрологических последствий острого отравления заринном и зоманом выделяются два звена: первое – острая химическая травма, выступающая как пусковой фактор, приводящий к нарушению нормального функционирования высших корковых функций центральной нервной системы, имеющие разные клинические проявления; второе – однотипные гормональные нарушения, возникшие в связи с изменением единства взаимодействия нейроэндокринной системы организма в ответ на изменение его внутренней среды, проявляющиеся функциональными нарушениями глюкокортикоидной функции надпочечников, симпатoadреналовой системы, щитовидной железы.

Положительная динамика гормональных нарушений в процессе лечения подтверждает диагностическую значимость. Отсутствие полного клинического выздоровления и нормализации гормональных нарушений у больных указывает на глубокие изменения в нейрогормональном звене адаптивных реакций организма и обуславливает у них прогрессивное течение отдаленных психоневрологических последствий острого отравления заринном и зоманом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ исходов интоксикаций у лиц, перенесших острые отравления заринном и зоманом и разработка критериев оценки их трудоспособности (медицинские, социальные и экономические последствия): отчет о НИР / ФГУП «НИИ ГПБ» ФМБА России; рук. Г.М. Казангинова; исполн.: Т.А. Сорокина [и др.]. – Волгоград, 1988. – 82 с. – Инв. № 148.
2. Бадюгин И.С. Экстремальная токсикология: руководство для врачей / И.С. Бадюгин, Ш.С. Каратай, Т.К. Константинова; под ред. Е.А. Лужникова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 416 с.
3. Бонитенко Ю.Ю. Чрезвычайные ситуации химической природы: (химические аварии, массовые отравления; медицинские аспекты) / Ю.Ю. Бонитенко, А.М. Никифоров. – СПб.: Гиппократ, 2005. – 646 с.
4. Гомеостаз / Под ред. акад. АМН СССР проф. П.Д. Горизонтова. – М.: Медицина, 1981. – 575 с.
5. Гребенюк А.Н. Современное состояние антидотной терапии острых отравлений химической этиологии в зарубежных странах / А.Н. Гребенюк, Д.Ю. Минаев // Военно-медицинский журнал. – 2010. – № 1. – С. 49–52.
6. Држевецкая И.А. Основы физиологии обмена веществ и эндокринной системы: Учебное пособие для биологических и медицинских специальностей спецвузов / И.А. Држевецкая. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1994. – 256 с.
7. Камышиников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышиников. – 3-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.
8. Кучеренко В.З. Применение методов статистического анализа для изучения общественного здоровья и здравоохранения / В.З. Кучеренко. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 256 с.
9. Лужников Е.А. Острые отравления у взрослых и детей / Е.А. Лужников, Г.Н. Суходолова. – М.: Эксмо, 2009. – 556 с.
10. Маглина Э.Ш. Метод определения адреналина, норадrenalина, дофамина и ДОФА в одной порции мочи / Э.Ш. Маглина, З.М. Киселева, И.З. Софиева // Методы клинической биохимии гормонов и медиаторов. – Ч.2. – М.: 1-й МОИМИ, 1974. – С. 27.
11. Неотложная терапия острых отравлений и эндотоксикозов / Под ред. Е.А. Лужникова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: МИА, 2010. – 472 с.
12. Общая токсикология / Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – 608 с.
13. Павлихина Л.В. Флюориметрический метод раздельного определения свободных и связанных с белками 11-оксикортикостероидов в плазме периферической крови / Л.В. Павлихина // Сборник методов клинико-биохимических исследований гормонов и медиаторов. – М., 1973. – С. 70–74.
14. Рациональная фармакотерапия заболеваний эндокринной системы и нарушений обмена веществ / С.Д. Арапова [и др.]; под общ. ред.: И. И. Дедова, Г. А. Мельниченко; Рос. ассоц. эндокринологов. – М.: Литтерра, 2008. – 582 с.
15. Руководство по токсикологии отравляющих веществ / Под ред. акад. АМН СССР проф. С.Н. Голикова. – М.: Медицина, 1972. – 471 с.
16. Сливнов В.Н. Радионуклидные и радиоиммунологические исследования функций эндокринных желез / В.Н. Сливнов. – Киев: «Здоров'я», 1978. – 205 с.

Filatov B.N., Charova T.A.

Neuroendocrine mechanisms of the pathology development in patients who endured an acute intoxication by organophosphorous agents

Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology, Federal Medico-Biological Agency of Russia, Volgograd

To identify a role of neurohormonal disorders in the development of psychoneurological effects from acute intoxications by organophosphorous agents in 125 workers who had worked at a former facility of neural paralytic weapons (Volgograd Open-Joint-Stock Company-VOAO Khimprom), the functional status of adrenal cortex, thyroid gland and sympathoadrenal system was studied. Detected same-type hormonal disorders in patients both with organic and functional lesions of the nervous system give reasons to believe that they are based on a common mechanism of forming responses of the regulating system to changes in the internal medium.

Материал поступил в редакцию 21.09.2011 г.

УДК: 615.21/26: 612.117

Влияние изониазида на метаболический статус лимфоцитов и на их склонность к апоптозу, индуцированному гипертермией

Долгушин М.В.¹,
Гущин А.С.², Юшков Г.Г.¹

¹НИИ биофизики ГУВПО Ангарской государственной технической академии Федерального агентства по образованию РФ
²ОАО «Фармасинтез», г. Иркутск

Хроническое пероральное введение изониазида или комплекса изониазида с пиридоксином вызывало дозозависимые изменения в активности дегидрогеназ и гидролаз в лимфоцитах периферической крови. Кроме того, введение токсической дозы изониазида приводило к снижению процентного числа клеток с морфологическими признаками апоптоза, индуцированного гипертермией.

Ключевые слова: изониазид, лимфоциты, ферменты, цитохимия, апоптоз.

Введение. Согласно результатам клинических и экспериментальных исследований, метаболические изменения, выявляемые в лимфоцитах крови при воздействии химических факторов, показывают зависимость от характера патологических и реактивных состояний организма, а также от тяжести интоксикации [1 – 4, 7].

Выраженная лабильность внутриклеточных ферментативных процессов наряду с относительной простотой взятия образцов крови для анализа позволяет использовать метаболическую оценку циркулирующих лимфоцитов в токсикологии лекарственных средств, в частности в ходе тестирования осложнений, индуцированных повышенной чувствительностью к противотуберкулёзным препаратам (ППП) [1, 4, 7]. Кроме того, обнаруженные в модельных условиях особенности иммунотоксического действия ППП усиливают интерес к обменным процессам в лимфоидных клетках. В проведенных ранее экспериментах по изучению иммунотропных влияний изониазида, одного из основных и наиболее эффективных лекарственных средств, используемых в комплексной химиотерапии туберкулёза, были отмечены существенные сдвиги в физиологической активности лимфоцитов крови, включая параметры, отражающие уровень пролиферации и выживаемости [13 – 15]. В таком случае рассмотрение реакции лимфоцитарных ферментов на изониазид представляется весьма актуальным, учитывая возможность выявления внутриклеточных изменений, имеющих отношение к механизмам иммунной и неспецифической защиты.

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы изучить

состояние метаболических процессов в лимфоцитах периферической крови после продолжительного воздействия изониазида в различных дозах. Помимо цитохимического анализа активности ферментов нами была поставлена задача оценить жизнеспособность клеток, определяя уровень индуцированного апоптоза. Планировалось исследовать реакцию лимфоцитов на изолированное введение изониазида, а также на воздействие последнего в сочетании с пиридоксином. Совместное применение этих двух препаратов продиктовано необходимостью профилактики побочных эффектов изониазида, способного нарушать метаболизм данного витамина и обострять его недостаточность, связанную с развитием туберкулёза.

Материалы и методы исследования. В опыт были взяты неинбредные белые крысы-самцы, массой 170 – 230 г. Содержание крыс в виварии и все манипуляции с ними соответствовали «Правилам лабораторной практики» (Приказ Минздрава-соцразвития России от 23 августа 2010 г. №708н). Всего было использовано 38 животных, в группу 1 (контрольную) вошло 10 особей, в опытные группы – по 7 особей. Животных, составляющих опытные группы, подвергали воздействию препаратов, синтезированных в ОАО «Фармасинтез» (г. Иркутск), при этом вводили либо изониазид, либо изовит (комплекс изониазида и пиридоксина), перорально, ежедневно, в течение трёх месяцев в терапевтической дозе (5 мг/кг) или в токсической (100 мг/кг) по изониазиду. Контрольные животные вместо ППП получали порцию дистиллированной воды. Доза в 5 мг/кг принималась в качестве терапевтической согласно инструкции, утверждённой Фармкомитетом Минздрава РФ

[7]. Токсическая доза была выбрана нами как превышающая терапевтическую дозу в 20 раз, исходя из рекомендованного ранее способа пересчёта в зависимости от уровня LD₅₀ [9]. После прекращения введения препаратов проводили забор крови, которую использовали для цитохимического анализа ферментов, а также для оценки возможных изменений в жизнеспособности лимфоцитов, учитывая процентное число клеток, вступивших в апоптоз. Цитохимическими методами на мазках крови выявляли активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) по Р.П. Нарциссову [7], кислой фосфатазы (КФ) по Берстону [10] и неспецифической (нафтол-AS-ацетат) эстеразы (НЭ) по Лёффлеру [6]. Результаты определения уровня СДГ, ЛДГ и НЭ выражали в среднем числе гранул продукта реакции на клетку, а показателем активности КФ – в условных единицах среднего цитохимического коэффициента по L. Karlow [6]. Для постановки теста на апоптоз образцы гепаринизированной крови инкубировали в течение 4 ч в условиях гипертермии (41 °С), после инкубации готовили мазки с последующим окрашиванием по Романовскому и подсчётом количества лимфоцитов с фрагментированным ядром [11]. Полученные данные обрабатывали статистически при помощи U-критерия (Манна – Уитни).

Результаты и их обсуждение. Лимфоциты периферической крови крыс, подвергавшихся воздействию ПТП, демонстрировали дозозависимую реакцию, затрагивающую значения всех определяемых параметров (табл.). Внутриклеточные сдвиги, индуцированные токсической дозой ПТП, были статистически значимыми относительно контроля и относительно группы животных, подвергавшихся терапевтическому влиянию лекарств. При этом хронический эффект терапевтической дозы был весьма незначителен и проявлялся лишь в активации КФ после воздействия изониазида. Реакция лимфоцитов на дополнительное введение пиридоксина также ограничивалась лишь особенностями в изменении активности КФ. Терапевтическая доза изовита не влияла на активность КФ, а его токсическая доза приводила к активации фермента. Параллельно интоксикация препаратами оказывала стимулирующее действие на СДГ и ЛДГ, тогда как активность НЭ и процентное число лимфоцитов, вступивших в апоптоз, достоверно снижалось.

В настоящее время эффекты изониазида на лимфоциты изучаются, как правило, в экспериментах *in vitro*, позволяющих охарактеризовать специфику цитотоксического действия препарата [1, 13, 14]. Однако аналогичные исследования *in vivo* представляются нам не менее актуальными, поскольку дают возможность зафиксировать внутриклеточные обменные преобразования, опосредованные перестройками на уровне системной (общеорганизменной) регуляции, в том числе обусловленные потенциальными модификациями гормонального звена. Установлено, что продолжительное лечение изониазидом может приводить к усилению влияния глюкокортикоидов (ГК) на метаболический статус клеток крови, что следует из свойственной данному препарату способности индуцировать гиперфункцию коры надпочечников [7]. По существу, именно этот регуляторный сдвиг обосновано рассматривать в качестве опосредующего механизма обнаруженных нами внутриклеточных изменений. В частности, активация СДГ наблюдается при воздействии ГК на лимфоциты, выделенные из периферической крови пациентов после длительной ГК-терапии, что сопровождается пониженным пролиферативным ответом клеток на фитогемагглютинин (ФГА), тогда как в случае ингибирующего влияния ГК на СДГ нарушения пролиферации не происходит [5]. В данном отношении представляет интерес свойство изониазида ингибировать ФГА-индуцированную бласттрансформацию мононуклеарных клеток крови, что прослеживается при многократном пероральном введении препарата, но не после его добавления *in vitro* [15]. Вместе с тем, в динамике пролиферативного ответа лимфоцитов на ФГА активация дегидрогеназ (СДГ и ЛДГ) характерна для завершающего этапа, связанного с повышением численности молодых клеток [10], очевидно, ещё не имеющих полноценного рецепторного аппарата, и поэтому не способных реагировать на внешние стимулы, включая митогены. Действие ГК на лимфоциты крови может быть выражено аналогичным способом, то есть, в неспецифическом уменьшении чувствительности к митогенам и другим экзогенным воздействиям (включая понижение уровня апоптоза, индуцированного гипертермией), что, по всей видимости, имеет значение в реализации антиоксидантной защиты [11].

Отмеченное нами снижение активности гидролаз наиболее

приемлемо объяснить мембраностабилизирующей функцией, закономерной для ГК [8]. При этом ферментативная реакция противоположной направленности (активация КФ и других лизосомальных ферментов в лимфоцитах крови) может иметь отношение к менее выраженному (физиологическому) усилению влияния ГК [16], вероятно, отражая способность последних к стимуляции катаболических процессов в лимфоидной ткани. В свою очередь несколько ослабленный ответ КФ на изовит по сравнению с ответом на изониазид, по-видимому, обусловлен свойством пиридоксина модулировать эффекты стероидных гормонов, ингибируя генную экспрессию, опосредованную через рецепторы к ГК [12]. В то же время, анализируя обнаруженное нами весьма незначительное влияние пиридоксина, необходимо учитывать, что целый ряд функций ГК (включая связывание с митохондриями), может быть реализован и без предварительного образования комплекса с внутриклеточными рецепторами, то есть, не опосредуется изменениями на уровне белкового синтеза [5].

Таким образом, внутриклеточные метаболические изменения, выявленные в настоящей работе, можно трактовать как неспецифические, связанные с общей (системной) реакцией на токсическое воздействие. В исследовании *in vitro* показано, что прямое (специфическое) влияние изониазида на лимфоциты проявляется в угнетении СДГ [1]. В условиях клиники снижение активности дегидрогеназ в лимфоцитах крови при развитии токсических побочных эффектов наблюдается в режиме комплексной химиотерапии туберкулёза, только в случае использования изониазида в сочетании с другими ПТП [7]. При этом в отличие от выявленного нами неспецифического ответа, токсические проявления, индуцированные введением комбинированных ПТП в ходе химиотерапии или контактом с изониазидом *in vitro*, могут приводить к уменьшению жизнеспособности лимфоцитов [7, 14]. Очевидно, что ферментативные сдвиги неспецифического характера, не позволяя определить вклад конкретного препарата в реализацию механизмов токсического действия, тем не менее, имеют значение в оценке состояния компенсаторных процессов, зависящих от особенностей экспозиции.

Выводы. Анализ метаболического статуса лимфоцитов крови при введении изониазида даёт возможность обнаружить комплекс дозозависимых эффектов, связанных с различиями в характере ферментативных изменений. Введение изониазида в терапевтической дозе приводит лишь к активации КФ, а в токсической дозе – к активации СДГ и ЛДГ, ингибированию КФ и НЭ, снижению числа клеток с морфологическими признаками апоптоза. Пиридоксин незначительно модифицирует реакцию лимфоцитов на изониазид, оказывая влияние только на уровень КФ, который не изменяется после введения терапевтической дозы препарата и возрастает в результате интоксикации.

Влияние изониазида на активность ферментов и уровень апоптоза, индуцированного гипертермией, в лимфоцитах периферической крови крыс

Показатель	Контроль	Изониазид		Изониазид + пиридоксин (изовит)	
		терапевтическая доза	токсическая доза	терапевтическая доза	токсическая доза
СДГ	12,9 ± 0,5	13,2 ± 0,7	19,7 ± 0,7*##	12,8 ± 1,2	17,5 ± 0,8*##
ЛДГ	18,1 ± 1,1	17,9 ± 1,4	24,7 ± 2,0**	19,3 ± 0,8	24,9 ± 0,9*##
КФ	0,51 ± 0,03	0,61 ± 0,03*	0,36 ± 0,05*##	0,52 ± 0,03	0,69 ± 0,02*##
НЭ	7,2 ± 0,3	7,5 ± 0,4	4,6 ± 0,2**##	7,2 ± 0,4	4,5 ± 0,6*##
Апоптоз	15,4 ± 1,2	14,7 ± 1,1	9,3 ± 1,2*##	15,3 ± 1,3	10,7 ± 1,8*#

Примечания: Показана достоверность различий по отношению к контролю (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$) и по отношению к группе животных, подвергавшихся воздействию препаратов в терапевтической дозе (# – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$).

СДГ – сукцинатдегидрогеназа; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; КФ – кислая фосфатаза; НЭ – неспецифическая (нафтол-AS-ацетат) эстераза.

Результаты оценки активности СДГ, ЛДГ и НЭ представлены в среднем числе гранул продукта реакции на клетку; показатели активности КФ – в единицах среднего цитохимического коэффициента, уровень индуцированного апоптоза – в процентном числе лимфоцитов с фрагментированным ядром.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильева О.А., Уразова О.И., Серебрякова В.А. и др. Оценка влияния противотуберкулезных препаратов на цитохимический статус лимфоцитов *in vitro* // Пробл. туберкулеза, 2008. – № 3. – С. 27-30.
2. Долгушин М.В., Потрохов О.И. Цитохимия лимфоцитов периферической крови в оценке тяжести острой интоксикации продуктами горения // Клин. лаб. диагност., 2010. – № 10. – С. 18.
3. Долгушин М.В., Соболев В.Г. Изменение активности дегидрогеназ и кислой фосфатазы в лимфоцитах периферической крови в динамике заживления ожоговой раны // Известия Самарск. научн. центра РАН, 2009. – Т. 11. – № 1 (Вып. 5). – С. 947-949.
4. Долгушин М.В., Юшков Г.Г., Гушин А.С. Особенности метаболических изменений в лейкоцитах крови при интоксикации противотуберкулезными препаратами // 3-й съезд токсикологов России. Тезисы докладов. – М., 2008. – С. 95-96.
5. Иващенко Ж.А., Кузнецова О.П., Комиссарова И.А., Калашникова Е.А. Изучение гормоночувствительности у больных гломерулонефритом // Терап. архив, 1996. – Т. 68. – № 6. – С. 13-16.
6. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Мишин В.Ю. Медикаментозные осложнения комбинированной химиотерапии туберкулеза легких. – М.: ООО «Мед. информ. агентство», 2007. – 248 с.
8. Панин Л.Е., Маянская Н.Н. Лизосомы. Роль в адаптации и восстановлении. – Новосибирск: Наука, 1987. – 200 с.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Ремедиум, 2005. – 405 с.
10. Хейхоу Ф.Г. Дж., Квалино Д. Гематологическая цитохимия. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.
11. Черных Е.И., Языков К.Г., Семке В.Я. Апоптоз лейкоцитов периферической крови, индуцированный действием гипертермии и преднизолона, у лиц с расстройством адаптации // Бюл. экспер. биол., 2002. – Т. 134. – № 12. – С. 617-619.
12. Allgood V.E., Cidlowski J.A. Vitamin B6 modulates transcriptional activation by multiple members of the steroid hormone receptor superfamily // Biol. Chem., 1992. – V. 267. – № 6. – P. 3819-3824.
13. Kucharz E.J. Studies on immunomodulatory properties of isoniazid. Influence of isoniazid on responsiveness of peripheral blood mononuclear cells to interleukin-2 // Cent. Eur. J. Public Health, 1995. – V. 3. – № 2. – P. 65-66.
14. Kucharz E.J., Sierakowski S.J. Studies on immunomodulatory properties of isoniazid. Effect of isoniazid on mitogen and anti-CD3 antibody – induced proliferation of human peripheral blood mononuclear cells and T-cells // J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol., 1990. – V. 54. – № 1. – P. 99-105.
15. Ravn P., Linnet J., Klokke M., Pedersen B.K. Effects of isoniazid treatment on human lymphocyte proliferative response, lymphocyte subsets and natural killer cell activity // Immunopharmacology, 1995. – V. 30. – № 3. – P. 247-253.
16. Stojek W., Borman A., Glac W. et al. Stress-induced enhancement of activity of lymphocyte lysosomal enzymes in pigs of different stress-susceptibility // J. Physiol. Pharmacol., 2006. – V. 57. (Suppl. № 8). – P. 61-72.

Dolgushin M.V.¹, Gushchin A.S.², Yushkov G.G.¹

Influence of isoniazid on the metabolic status of lymphocytes and their predisposition to hyperthermia-induced apoptosis

¹ Institute of Biophysics, Angarsk State Technical Academy, Angarsk
² Open Joint-Stock Company «Pharmasynthez», Irkutsk

A chronic peroral administration of isoniazid or an isoniazid complex with pyrodoxin caused dose-dependent changes in the dehydrogenases and hydrolases activity in peripheral blood lymphocytes. In addition, the administration of isoniazid toxic doses led to the decrease of a percent number of cells with apoptosis morphologic signs induced by hyperthermia.

Материал поступил в редакцию 24.11.2011 г.

УДК 615.28:615.06:616.12

Влияние изониазида на сократимость и адренореактивность сердца крысы

Гриценко Н.С., Долгих В.Т.

Омская государственная медицинская академия

В эксперименте на модели изолированного изоволюмически сокращающегося сердца крысы изучено влияние изониазида на миокард. Установлено, что сам препарат не оказывает прямого токсического влияния на изолированные сердца крыс, что позволяет предполагать, что кардиотоксическое воздействие оказывают его метаболиты, но изониазид повышает чувствительность адренорецепторов миокарда к адреналину.

Ключевые слова: изониазид, миокард, сократимость, адренореактивность.

Введение. Изониазид является основным препаратом в большинстве схем лечения больных туберкулезом, как наиболее эффективный противотуберкулезный препарат [7]. Только изониазид используется в качестве монотерапии при первичной и вторичной химиопрофилактике контактных по туберкулезу и инфицированных лиц [4,5,9]. Продолжитель-

ность приема препарата составляет не менее полугода, что обуславливает высокий риск развития токсических осложнений, обусловленных как самим препаратом, так и продуктами его метаболизма [5,7,11]. Существующее в настоящее время представление о токсичности препарата основано в большей мере на клинических проявлениях его побочных

действий. Имеющиеся публикации касаются лишь частоты возникновения и описания клинических симптомов, а также установления факта кардиодепрессии, но только в условиях комбинированной химиотерапии [6,8,13], при проведении которой не представляется возможным оценить негативное влияние каждого препарата, в том числе и изониазида. Ранее проведенными исследованиями нами установлено, что ежедневное энтеральное введение изониазида в течение двух месяцев оказывает дозозависимый повреждающий эффект на сердце, а патогенетическими факторами кардиодепрессии являются гипоксия, чрезмерная активация процессов свободно-радикального окисления, нарушение соотношения про- и антиоксидантной системы, деструкция мембран кардиомиоцитов [1,2]. В этой связи возникает вопрос, насколько выражен кардио-депрессивный эффект самого препарата, а не продуктов его метаболизма при длительном его приеме? Получить ответ на этот вопрос можно в случае, если перфузировать изолированные сердца интактных животных раствором Кребса-Хензеляйта, содержащим изониазид.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 60 белых нелинейных крысах-самцах массой $249 \pm 10,0$ г. Животные содержались в виварии в условиях, регламентированных приказом Минздравсоцразвития России «Правила лабораторной практики» от 23 августа 2010 г. №708н). Животные были разделены на контрольную и опытную группы по 30 животных в каждой. Для оценки кардиотоксического действия изониазида исследования были проведены на изолированных изоволюмически сокращающихся сердцах крыс, лишенных регуляторных влияний со стороны организма [10]. С этой целью у животных под эфирным наркозом осуществляли срединную торакотомию, забирали сердца и помещали их в охлажденный до $2-4^{\circ}\text{C}$ раствор Кребса-Хензеляйта. После кардиоopleгии частично удаляли предсердия, а с целью профилактики спонтанного ритма осуществляли атриовентрикулярную блокаду, прошивая межпредсердную перегородку. Затем фиксировали за аорту к канюле, через которую в коронарные артерии подавался раствор Кребса-Хензеляйта. В полость левого желудочка помещали латексный баллончик постоянного объема, соединенный с портативным монитором РМ-8000. Проточную перфузию сердец осуществляли ретроградно через аорту тем же раствором, насыщенным карбогеном (95% кислорода и 5% углекислого газа), под давлением 70 мм рт. ст. при температуре 37°C , поддерживаемую ультратермостатом VT-8, и $\text{pH}=7,33-7,36$. Ритм сердца навязывали прямоугольными импульсами длительностью 3 мс, напряжением на 10% выше порогового с частотой 240 мин^{-1} с помощью электростимулятора ЭС-50-1. Через 30 мин нормоксической перфузии, необходимой для стабилизации работы сердца, записывали кривую давления в левом желудочке. На основании графического материала рассчитывали систолическое (СД мм рт.ст.), диастолическое (ДД мм рт.ст.) и развиваемое (РД мм рт.ст.) давление, а также скорость сокращения ($\text{dp}/\text{dt max}$, мм рт.ст./с) и расслабления ($-\text{dp}/\text{dt max}$, мм рт.ст./с) левого желудочка.

Сердца животных опытной группы в отличие от сердец контрольной группы перфузировали раствором Кребса-Хензеляйта с добавлением в него изониазида в средней терапевтической концентрации 1,65 г/л для оценки влияния самого изониазида, исключая действие метаболитов на миокард изолированного сердца крысы. После стабилизации работы сердца применяли две функциональные пробы:

Нагрузка ритмом высокой частоты, при которой осуществлялся внезапный переход с частоты 240 на 300, 400 и 500 мин^{-1} . После 30-секундной высокочастотной стимуляции осуществляли 5-минутной возврат к «базовой» частоте 240 мин^{-1} . Данный прием позволяет оценить мощность кальциевого насоса сарколеммы и саркоплазматического ретикула, ответственного за транспорт кальция из кардиомиоцитов и реализацию диастолического расслабления миокарда. Поскольку при укорочении сердечного цикла извлечение кальция из миофибрилл и саркоплазмы и перемещение его в саркоплазматический ретикулум становится недостаточным, то нарушается расслабление миокарда, повышается конечное диастолическое давление в желудочке и формируется синдром незавершенной диастолы [3]

Изучение влияния возрастающих доз адреналина (5×10^{-8} ; 1×10^{-7} ; $2,5 \times 10^{-7}$; 1×10^{-6} ; 2×10^{-6} мкг) для оценки чувствительности адренорецепторов сердца к катехоламинам. С этой це-

лью строили графики зависимости эффекта, в данном случае развиваемого давления, от концентрации адреналина в системе обратных координат, по которым рассчитывали величины кажущихся констант диссоциации комплекса «адреналин-адренорецептор». Численно константа равна концентрации адреналина, вызывающей реакцию, равную половине максимальной реакции [3].

В коронарном протоке стандартизированными методами определяли содержание глюкозы, лактата и аспартатамино-трансферазы (АсАТ).

Результаты и их обсуждение. Силловые и скоростные параметры сократимости миокарда левого желудочка контрольных животных не отличались от литературных данных [1]. Вместе с тем, изониазид в средней терапевтической концентрации при частоте стимуляции 240 и 300 мин^{-1} , как видно из табл. 1, оказывал даже умеренно положительное инотропное влияние, что сопровождалось тенденцией к увеличению систолического и развиваемого давления. При навязывании более высокого ритма (400 и 500 мин^{-1}) достоверных различий с контролем не наблюдалось. Также добавление изониазида не выявило достоверно значимых изменений объемной скорости коронарного протока, потребление глюкозы и выделение лактата и АсАТ по сравнению с одноименными показателями контрольной группы (табл. 2). Таким образом, исследованные параметры сократимости и метаболизма изолированного изоволюмически сокращающегося сердца, как при обычной частоте сокращений, так и при навязывании высокого ритма позволяют констатировать, что кардиотоксическое действие оказывает не сам изониазид, а продукты его метаболизма такие как моноацетилгидразин, диацетилгидразин и реакционно способный гидразин [6,9,10]

Несколько иные результаты были получены при оценке реакции изолированных сердец на возрастающие концентрации адреналина гидрохлорида (рис. 1). Видно (рис. 1А), что одна и та же доза, вводимого в перфузат адреналина, вызывает более выраженную ответную реакцию сердец животных, в перфузате которых находился изониазид. В частности, максимальный прирост систолического давления по отношению к его исходному уровню, принятому за 100%, составлял 30-35%, а в контроле не превышал 25-28%.

Однако при действии адреналина нет уверенности, что достигнутая величина инотропного эффекта адреналина действительно является максимально возможной. Не исключено, что при высоких концентрациях адреналина проявляется его токсическое действие на сердце и как следствие этого снижение величины реакции. Построение графика зависимости систолического давления от концентрации адреналина в перфузате в системе обратных двойных координат и определение по ним кажущихся констант диссоциации (К) комплекса «адреналин-адренорецептор» позволяет избежать ошибок, связанных с оценкой адренореактивности сердца. На рисунке 1Б, кажущаяся константа диссоциации комплекса «адреналин-адренорецептор» сердец, перфузируемых с добавлением изониазида, численно равная концентрации адреналина, вызывающей адренергическую реакцию, по величине равную половине максимальной, уменьшилась с $4,7 \pm 0,54 \times 10^{-8}$ мкг до $3,5 \pm 0,27 \times 10^{-8}$ мкг.

Таким образом, при добавлении в перфузат изониазида в средней терапевтической концентрации отмечалось снижение в 1,5 раза кажущейся константы диссоциации, что свидетельствовало о повышении чувствительности сердца к экзогенным катехоламинам, что необходимо учитывать в клинике при оказании пациентам инотропной поддержки.

Заключение. Анализ полученных данных позволяет утверждать, что перфузия изолированных сердец раствором Кребса-Хензеляйта, содержащим изониазид, повышает чувствительность адренорецепторов сердца к экзогенным катехоламинам, но в тоже время прямое кардиодепрессирующее действие оказывает, очевидно, не сам изониазид (с учетом ранее полученных результатов [1, 2]), а продукты его метаболизма, такие как моноацетилгидразин, диацетилгидразин и реакционно способный гидразин, что необходимо учитывать при проведении инотропной и кардипротективной терапии больных туберкулезом.

Таблица 1

Показатели сократимости левого желудочка сердец крыс контрольной (К) и опытной (О) при нагрузке ритмом высокой частоты; Ме (LQ-HQ)

Показатели	Серия опытов	Частота навязываемых сердечных сокращений			
		240 мин ⁻¹	300 мин ⁻¹	400 мин ⁻¹	500 мин ⁻¹
СДЛЖ, мм рт.ст.	Контроль Опыт	92 (86-98) 95 (88-102)	102 (96-104) 110 (99-118)*	102 (96-110) 100 (95-107)	104 (100-106) 102 (98-110)
ДДЛЖ, мм рт.ст.	Контроль Опыт	4 (4-5) 4 (4-5)	5 (5-7) 6 (5-7)*	10 (9-11) 9 (8-10)	14 (12-15) 15 (14-17)
РЛЖД, мм рт.ст.	Контроль Опыт	88 (82-94) 91 (84-98)	96 (91-98) 104 (92-112)*	91 (87-98) 91 (86-99)	89 (86-94) 87 (80-90)*
ДД, мм рт.ст.	Контроль Опыт	- -	- -	4,1 (4-6) 5,0 (4-7)	6,3 (5-7) 6,9 (6-7)
dp/dt max, мм рт. ст./с	Контроль Опыт	1727 (1625-1775) 1702 (1622-1754)	1956 (1898-2010) 1922 (1867-1955)	- -	- -
-dp/dt max, мм рт. ст./с	Контроль Опыт	1242 (1197-1287) 1238 (1181-1267)	1348 (1298-1379) 1334 (1276-1364)	- -	- -

Примечание. В каждой группе сердца от 30 животных. *- p < 0,05 по сравнению с контролем; Контроль – контрольная группа, Опыт- опытная группа изониазид 1,65 г/л

Таблица 2

Влияние изониазида на коронарный проток и содержание в нем АсАТ, потребление глюкозы и выделение пирувата изолированным сердцем; Ме (LQ-HQ)

Показатели	Серии опытов	
	Контроль	Опыт
Коронарный проток, мл/(мин·г)	12,0 (10,8-16,2)	11,4 (6,0-14,4)
АсАТ, МЕ/мин·кг	317 (314-324)	320 (314-331)
Глюкоза, мкмоль/(мин·кг)	240 (235-254)	235 (187-277)
Пируват, мкмоль/(мин·кг)	2,9 (2,6-3,7)	3,1 (2,4-3,8)

Примечание. Потребление глюкозы и выделение пирувата рассчитано на 1 мм рт.ст. развиваемого давления за одну минуту на 1 кг влажной массы миокарда. Выделение АсАТ рассчитано за 1 минуту 1 кг массы миокарда.

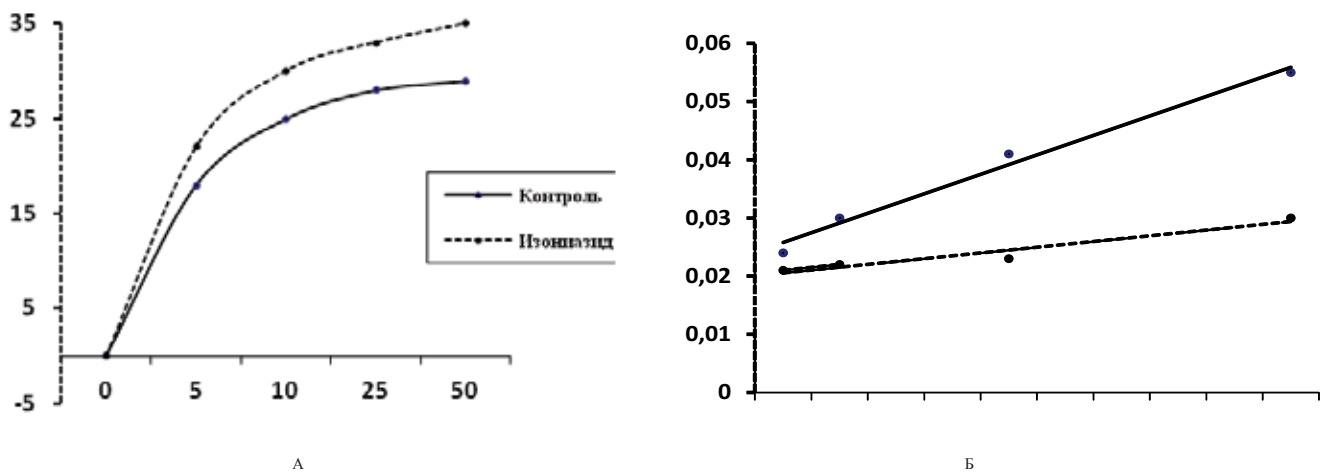


Рис.1. Адуренореактивност на срца на крета при доававање на перфузионен раствор изониазид.

А - криве на влијание на адуреналин на инотропна реакција на изолирано срце. По ос абсцисс - количество на введувано адуреналин (во 10-8 мг) во перфузат; по ос ординат - прирост систолическог притиска (во %).

Б - зависност на величину инотропна реакција на изолирано срце од концентрација на адуреналин. По ос абсцисс - обрната величину (1/106 мг) на количество на адуреналин, введувано во перфузат; по ос ординат - обрната величину (1/мг%) на инотропног ефекта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гриценко Н.С., Долгих В.Т. Кардиотоксический эффект изониазида // Токсикологический вестник. – 2010. - № 2. – С. 44-47.
2. Гриценко Н.С., Долгих В.Т. Функционально-метаболические нарушения при длительном приеме изониазида // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2010. - № 1. – С. 63-66.
3. Долгих В.Т. Повреждение и защита сердца при острой смертельной кровопотере. – Омск, 2002. – 203 с.
4. Жук Н.А. Причины неэффективного лечения больных туберкулезом // Проблемы туберкулеза. – 2003. - № 4. – С. 34-39.
5. Коломиец В.М., Абрамов А.В., Кудинов С.М. Ограниченная эпидемия туберкулеза в контингенте социально-дезадаптированных лиц молодого возраста // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2006. - № 3. - С. 40-69.
6. Колпакова Т.А. Осложнения антибактериальной терапии у больных туберкулезом легких с сопутствующими заболеваниями: Автореф. дис. д-ра мед. наук. – Новосибирск, 2002. – 42 с.
7. Мишин В.Ю., Стрелис А.К., Чуканов В.И. и др. Лекции по физиопульмонологии. – М., 2006. – 560 с.
8. Мордык А.В., Лысов А.В., Иванова О.Г. Побочные реакции химиотерапии туберкулеза и разработка способов их профилактики // Туберкулез в России. Матер. VIII Рос. съезда фтизиатров. – М.: ООО «Идея», 2007. – С. 442-443.
9. Туберкулез в Российской Федерации 2009 г. Аналитический обзор статистических показателей по туберкулезу, используемых в Российской Федерации. – М., 2010. – 224 с.
10. Fallen E.T., Elliott W.G., Gorlin R. Apparatus for study of ventricular function and metabolism in the isolated rat // J. Appl. Physiol. – 1967. – Vol. 22, N 4. – P. 836-839.
11. Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing. WHO report, 2006. - Geneva, Switzerland, World Health Organization, 2006 (WHO/HTM/TB/2006.362).
12. Mitchison D. (перевод Карачуского М.) // Проблемы туберкулеза и болезней легких. - 2005 - № 5 - С. 57-59.
13. Shah N.S., Wright A., Bai G.-H. et al. Worldwide emergence of extensively drug-resistant tuberculosis // Emerg. Infect. Dis. – 2007. - Vol. 13. - P. 380-387.

Gritsenko N.S., Dolgikh V.T.

Isoniazid impact on the rat heart contractility and adrenoreactivity

Omsk State Medical Academy

The isoniazid effect on myocardium was studied in an experiment on the model of an isolated isovolumically contracting rat heart. It was found out that the preparation itself does not pose a direct effect on the isolated rat heart which allows to assume that its metabolites are responsible for the cardiotoxic exposure but isoniazid increases the sensibility of the myocardium adrenoreceptors to adrenalin.

Материал поступил в редакцию 01.02.2012 г.

УДК 615.28:615.06:616.12

*Оценка органных, гематологических и биохимических проявлений токсичности высоких доз эхинохрома – 1,4-нафтохинонового препарата, полученного из морского ежа *scarpechinus mirabilis**

Цыбульский А.В.¹,
Артюков А.А.²,
Попов А.М.²,
Кривошапко О.Н.²

¹Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, г. Владивосток

Приведены данные, характеризующие влияние эхинохрома А на организм экспериментальных животных в диапазоне доз от 1 до 30 мг/кг массы тела. Показана выраженная токсичность эхинохрома А при его длительном применении в дозе 30 мг/кг и отсутствие таких эффектов при использовании дозы в 1 мг/кг. Представлены данные, характеризующие влияние длительного применения препарата на физиологические, гематологические и биохимические показатели организма. Сделан вывод об опасном для организма уровне токсичности дозы 30 мг/кг эхинохрома А и необходимости дальнейших исследований механизмов действия препарата в дозах 1 мг/кг и ниже.

Ключевые слова: 1, 4-нафтохиноны, эхинохром А, антиоксидант, токсичность

Введение. Препараты нафтохинонового ряда характеризуются наличием выраженной и разнообразной биологической активности [1], однако используются в достаточно ограниченных масштабах в связи с характерной для них токсичности – способности вызывать гемолиз эритроцитов и некроз тубулярных эпителиальных клеток [7].

Особый интерес вызывают 1,4-полигидрокси-нафтохиноны из морского ежа, в частности эхинохром А (ЭХА), который является активной субстанцией препарата «Гистохром». Фармакологические эффекты этого препарата обеспечили возможность его внедрения в клинику офтальмологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Очевидно, однако, что препараты

ЭХА имеют гораздо более широкий и пока мало изученный спектр фармакологической активности [1]. В связи с возможным расширением спектра применения является актуальным углубленное изучение механизмов действия этого препарата, определение показаний и противопоказаний, подбор доз и способов введения ЭХА в организм.

Гематоксичность, характерная для некоторых 1,4-нафтохинонов, чаще всего вызвана формированием семихинонового радикала, переносащего электрон на кислород. Это приводит к продукции супероксид-аниона, который катализируется флавоферментами, такими, как NADPH-цитохром-P-450 редуктаза. Биологическая значимость этих хинонов зависит от окис-

лительно-восстановительного цикла, от количества активных форм кислорода, а также реакций арилирования, в которых они принимают участие. Цитотоксическая активность 1,4-нафтохинонов зависит также от их гидрофобности [9].

Известно, что в организме человека активно функционирует два фермента – NAD(P)H⁺: хинон оксидоредуктаза (КФ 1.6.5.2, NQO1, DT-диафороза) и NAD(P)H⁺: хинон оксидоредуктаза-2 (КФ 1.10.99.2, NQO2). Оба фермента локализованы в тканях и клетках человека и катализируют следующую реакцию двухэлектронного восстановления: NAD(P)H⁺ + H⁺ + нафтохинон ® NAD(P) + дигидроксинафталин. Образующиеся дигидроксинафталины являются неустойчивыми соединениями и самоокисляются в тканях до исходного нафтохинона и перекиси водорода. Самоокисление гидроксиафтохиноновых соединений протекает с образованием перекиси водорода. Таким образом, суммарный итог реакций может быть записан в виде следующего уравнения: NAD(P)H⁺ + H⁺ + O₂ ® NAD(P) + H₂O₂. Количество образующейся перекиси водорода в единицу времени ферментом NQO1 увеличивается с числом гидроксильных заместителей в структуре нафтохинона [4, 8]. Влияние отдельных функциональных групп 1,4-нафтохинонов на проявления их биологической активности носит сложный характер. Они оказывают влияние на окислительно-восстановительные свойства различных биологических систем и могут проявлять как антиоксидантную, так и прооксидантную активность в зависимости от типа клеток и тканей, дозы и времени экспозиции [9].

При окислении ЭХА кислородом в присутствии ионов Ca²⁺ регистрируется образование перекиси водорода. В крови ионы кальция сосредоточены, в основном, в плазме крови. Кроме этого, плазма крови содержит и растворенный кислород (1 л плазмы содержит ~ 3,2 мл O₂, а весь гемоглобин эритроцитов ~ 220 мл O₂ на 1 л). Введение высоких доз ЭХА в кровь человека может приводить к дополнительному образованию H₂O₂, что может создавать потенциально опасные эффекты *in vivo* [3].

С целью характеристики фармакологических свойств ЭХА в условиях эксперимента проведено изучение механизмов действия двух доз ЭХА (1 и 30 мг/кг) для оценки его токсичности, реализуемой на уровне изменений физиологических показателей организма, его гематологических и биохимических параметров.

Материалы и методы исследования

Животные. Крысы белые беспородные нелинейные массой 200±25 г. Работа с экспериментальными животными соответствовала Национальному стандарту РФ ГОСТ 3 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

ЭХА получали согласно технологии, разработанной ТИ-БОХ ДВО РАН.

ЭХА использовали в виде 0,1% и 3% растворов в физиологическом растворе (ФР). Раствор вводили крысам внутривенно (в/в) один раз в день в течение 10 дней. Дозы ЭХА при этом составляли 1 мг/кг и 30 мг/кг массы тела. Контрольным животным вводили эквивалентный объем ФР. Животных взвешивали до начала курса введения ЭХА и по его окончании. Оценивали внешний вид и поведение животных. Через сутки после введения последней дозы ЭХА животных умерщвляли под эфирным наркозом и получали цельную кровь и сыворотку крови для гематологических и биохимических исследований, а также – внутренние органы для патоморфологического изучения. Для выявления обратимости патологических изменений, возникших у крыс при введении ЭХА в дозе 30 мг/кг, проведен опыт с отсроченной группой (ОГ) после восстановительного периода в течение через 14 дней.

В крови животных определяли: А) гематологические показатели: содержание гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов, ретикулоцитов, содержание моноцитов (Мн), палочко-ядерных лейкоцитов (П/я), сегментно-ядерных лейкоцитов (С/я), эозинофилов (Э), базофилов (Б), лимфоцитов (Лф), Б) биохимические показатели: содержание в сыворотке крови глюкозы, общего белка, мочевины, креатинина, активность аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой (АСТ) трансаминаз.

Кровь исследовали на гематологическом анализаторе CELL-DYN 3700 (Abbott, США), имеющем встроенный программный модуль для ветеринарных исследований.

Биохимические показатели крови крыс и собранной суточной порции мочи оценивали на биохимическом анализаторе (ROCHE, Швейцария).

Все животные были подвергнуты патологоанатомическому

исследованию и изучению микроскопической картины гистологических препаратов внутренних органов (печени и легких), приготовленных по общепринятой методике. Также производили взвешивание внутренних органов животных (печень, селезенка, тимус, надпочечники) и рассчитывали относительную массу этих органов по отношению к массе тела в %.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием прикладной программы SPSS 11/0 с определением критерия достоверности Фишера-Стьюдента. Различия между двумя средними считали достоверными при p<0.05.

Результаты и обсуждение

Введение ЭХА животным в высокой дозе (30 мг/кг) приводило к быстрому развитию регистрируемых визуально изменений в поведении: в течение 2-х часов после введения препарата у крыс наблюдалась повышенная возбудимость и агрессивность. Эти изменения – свидетельство интоксикации, вызванной в указанной дозе. Доза ЭХА 1 мг/кг к таким изменениям в поведении крыс не приводила.

Учитывая длительность ежедневного курса инъекций ЭХА, возможна кумуляция токсических эффектов, что может проявляться в виде изменений массы тела животных и относительной массы органов, функционирование которых существенно затрагивается при явлениях стресса. При использовании дозы 1 мг/кг каких-либо заметных изменений в массе тела у крыс не выявлялось. Доза ЭХА 30 мг/кг приводила к существенному (на 6-7%) снижению массы тела у крыс обоего пола в одинаковой степени. Однако через 14 дней после прекращения введения ЭХА масса тела животных не только восстанавливалась, но и увеличивалась, превысив исходную. Особенно сильный прирост массы тела (на 10% от исходной) регистрировался у самок крыс (при +2% у самцов). Т.о., выявлена существенная модуляция массы тела под влиянием инъекций высоких доз ЭХА. Диапазон колебаний этого показателя у самок крыс составил от -16% через 10 дней от начала эксперимента до +10% через 24 дня. Такая динамика массы тела животных может быть следствием усиления процессов катаболизма на фоне введения ЭХА и активации анаболических процессов после окончания курса инъекций.

Период, в который крысы получали инъекции ЭХА, характеризовался заметным изменением в их поведении. Это выразилось в угнетении двигательных реакций у животных, получавших ЭХА в дозе 30мг/кг. У крыс происходило снижение таких регистрируемых показателей как число пересеченных квадратов, число вертикальных стоек и число заглядываний в отверстия, что в целом говорит об общем угнетении их физиологического состояния. Патоморфологическое исследование внутренних органов позволило объяснить патогенетическую природу этого угнетения, а именно – развитие тяжелой полиорганной патологии. Эта патология в значительной степени оказалась обратимой, что регистрировалось при изучении органов животных через 14 дней после прекращения введения ЭХА. Восстановительная динамика коррелировала с тенденцией к восстановлению поведенческой активности животных отсроченной группы.

При проведении исследований крови экспериментальных животных выявлены гематологические сдвиги, которые у самок количественно были несколько более выражены. Однако изменения системы крови однотипны у животных обоих полов. Происходили гематологические сдвиги, интенсивность которых была существенно выше в группе крыс, получавших ЭХА в высокой дозе. Отмечалось снижение уровня гемоглобина (130±6 г/л при 167±11 в контроле, p<0.05) при практически стабильном уровне содержания эритроцитов и ретикулоцитов. Заметно снижено содержание тромбоцитов в крови у крыс, получавших ЭХА в дозе 30мг/кг (519±29 x10⁹/л при 616±41 x10⁹/л в контроле, p<0.05). Доза 1мг/кг такого эффекта не вызывала. Падение уровня тромбоцитов является свидетельством токсического действия высокой дозы препарата и коррелировало с данными эксперимента, показавшего двукратное увеличение времени свертывания крови у крыс, получавших ЭХА в дозе 30 мг/кг. Определяется также тенденция к снижению уровня лейкоцитов в крови животных этой группы (9±0,9 при 10,3±0,9 10⁹/л в контроле). Все эти изменения характеризовались обратимостью: через 14 дней после прекращения инъекций ЭХА показатели гемоглобина, тромбоцитов и лейкоцитов восстанавливались до уровня контроля.

Анализ лейкограммы позволил выявить, однако, изменения, которые характеризовались значительными и длительными отклонениями от уровней контроля. В группе животных,

получавших ЭХА в дозе 30 мг/кг, отмечается двукратный относительный прирост содержания П/я лейкоцитов при соответствующем падении содержания С/я лейкоцитов, т.е. происходит так называемый сдвиг лейкоцитарной формулы влево, отражающий преобладание более юных форм лейкоцитов. Возможно, это является следствием развития воспалительных поражений, имеющих, как мы уже отмечали, полиорганную локализацию. Отсроченный период характеризовался снижением до уровней контроля содержания П/я лейкоцитов, при значительном приросте более зрелых С/я. Это, видимо, отражает переход воспалительного процесса в стадию его контроля более зрелыми нейтрофильными лейкоцитами и Мн, достоверный прирост которых также отмечается в данной группе. Отметим также снижение в отсроченной группе относительного содержания Лф, что при отсутствии лейкоцитоза у животных этой группы говорит о преимущественно нейтрофильном характере контроля воспалительного процесса, интенсивность которого в целом можно охарактеризовать как умеренную. Выявлен определенный дисбаланс гематологической картины, обнаруживающийся у животных, получавших ЭХА, и касающийся уровней содержания Э, имеющих, как известно, важное значение в контроле процессов воспаления и, особенно, его аллергических вариантов. Если группа крыс, получавших ЭХА в дозе 1 мг/кг, характеризовалась умеренной тенденцией к повышению содержания Э, что, скорее, отражает активацию процессов обновления лейкоцитов крови, то у крыс, получавших препарат в высокой дозе, выявлена значительная эозинопения ($0,2 \pm 0,1$ % от общего числа лейкоцитов при $2,1 \pm 0,3$ % в контроле, $p < 0,01$). Содержание Э также имеет тенденцию к восстановлению в отсроченной группе, однако через 14 дней после окончания курса инъекций ЭХА не достигает уровней контроля.

В целом, данные, характеризующие влияние ЭХА на гематологические показатели, можно трактовать как подтверждающие токсический эффект применения высоких доз препарата. Изменения картины крови в большинстве случаев являются временными и характеризуется тенденцией к восстановлению нормальных параметров после прекращения введения препарата. Тем не менее, полного восстановления картины крови не происходит, т.е. гематоксические эффекты высоких доз ЭХА являются достаточно серьезной проблемой, требующей осторожности в применении этого препарата с точки зрения подбора доз и способов его введения.

При изучении биохимических показателей крови экспериментальных животных отмечен прирост уровня глюкозы крови в обеих группах, что является, как мы полагаем, свидетельством стрессогенного действия курса инъекций ЭХА и, вероятно, опосредуется действием гормонов стресса (кортизола и адреналина), вызывающих мобилизацию глюкозы из печени. Значительно снижается уровень трансаминазы АЛТ у крыс, получавших ЭХА в дозе 30 мг/кг. В обеих экспериментальных группах отмечается снижение содержания креатинина (табл. 1).

Падение уровня АЛТ ($p < 0,05$) у крыс, получавших инъекции ЭХА в высокой дозе, может свидетельствовать о некотором снижении функции печеночных клеток под влиянием ЭХА или о частичной их гибели. Однако эти процессы являются достаточно умеренными, колебания уровней трансаминаз находятся в пределах физиологической нормы и являются обратимыми (возврат к исходным уровням в отсроченной группе). Возможно, что такая динамика этого показателя является отражением процесса обновления клеток печени.

Анализ физико-химических свойств мочи экспериментальных животных выявил заметную тенденцию к снижению рН мочи у животных, получавших инъекции ЭХА. Более выраженные сдвиги реакции мочи регистрировались у животных, получавших высокую дозу препарата (рН $6,2 \pm 0,2$ при $7,8 \pm 0,9$ в контроле). Биохимический анализ выявил нарастание уровня креатинина мочи в группе животных, получавших ЭХА в дозе 1 мг/кг ($91,6 \pm 11,7$ при $52,6 \pm 12,5$ мкмоль/л в контроле, $p < 0,05$) и повышение уровня мочевины у крыс, получавших ЭХА в дозе 30 мг/кг ($9,8 \pm 1,5$ при $5,4 \pm 0,3$ ммоль/сут в контроле, $p < 0,05$). Этот эффект, видимо, является следствием раздражения ткани почек под влиянием ЭХА и усиления фильтрации и экскреции с мочой креатинина и мочевины. В «отсроченной группе» отмечается тенденция к снижению уровня мочевины и приближение его к уровню исходных, тогда как уровень креатинина остается пониженным ($35,4 \pm 4,3$ мкмоль/л).

Учитывая более высокую диагностическую значимость оценки соотношения между уровнем креатинина в сыворотке

крови и в моче, проведен расчет этих соотношений креатинина, а также – мочевины. Установлены различия в воздействии на уровни экскреции креатинина и мочевины: у животных, получавших ЭХА в дозе 1 мг/кг, преобладал уровень креатинина в моче, тогда как у животных, получавших высокую дозу ЭХА, повышался относительный уровень креатинина в крови. Однако говорить о ретенционном характере таких изменений не представляется возможным, так как относительные уровни мочевины у животных, получавших высокую дозу ЭХА, показывают отсутствие нарушения почечной фильтрации и экскреции. Таким образом, изменения в уровнях креатинина и мочевины в крови и моче не могут трактоваться как однозначное свидетельство нарушения функций почек, а, видимо, являются следствием каскада метаболических изменений в организме и раздражения тканей внутренних органов (в первую очередь, печени и почек) под влиянием ЭХА. Большинство из описываемых биохимических сдвигов оказываются умеренными (в рамках физиологической нормы) и носят транзитный характер, восстанавливаясь до исходных уровней в течение 14 дней после отмены инъекций, т.е. имеет место умеренно токсическое, стрессогенное действие ЭХА. Развивается стресс-синдром, затрагивающий функции внутренних органов, и приводящий к активации адаптационных процессов, возможно, сопряженных с активацией механизмов апоптоза и клеточного обновления.

Оценивая действие курса инъекций ЭХА, рассмотрено состояние ряда внутренних органов по показателю их относительной массы. В группе животных, получавших ЭХА в дозе 30 мг/кг, выявлены существенные сдвиги по этим показателям: значительный прирост массы печени ($4,7 \pm 0,5$ % при $3,0 \pm 0,4$ в контроле), селезенки ($0,42 \pm 0,08$ при $0,27 \pm 0,04$ в контроле) и надпочечников ($0,025 \pm 0,009$ при $0,014 \pm 0,01$ в контроле) при выраженном снижении относительной массы тимуса ($0,112 \pm 0,003$ при $0,168 \pm 0,003$ в контроле). Доза ЭХА 1 мг/кг такой эффект не вызывала, все эти показатели оставались на уровне контроля. Эти данные соответствуют предположению о стрессогенном и токсическом действии ЭХА при введении его крысам в высокой дозе. Увеличивается относительная масса органов, имеющих ключевое значение в механизмах физиологической реактивности – селезенки, печени и надпочечников, при соответствующем падении относительной массы тимуса. Происходит ли снижение массы тимуса вследствие реактивного его истощения или в результате прямого токсического действия высоких доз ЭХА на тимус, является темой для дальнейших исследований.

При гистологическом исследовании внутренних органов получены следующие результаты: у крыс, получавших ЭХА в дозе 1 мг/кг, обнаружено увеличение размеров тел и ядер гепатоцитов и повышение базофильной зернистости их цитоплазмы. Гипертрофию гепатоцитов и увеличение содержания в них рибосомальной РНК трактуется как признак функциональной активации ткани печени под влиянием ЭХА. У крыс, получавших ЭХА в дозе 30 мг/кг, в печени обнаружены выраженные дистрофические изменения и признаки колликвационного некроза гепатоцитов, лимфомакрофагальные инфильтраты, околососудистый отек, венозное полнокровие, васкулиты. Эти данные, а также описанные выше изменения поведения животных, сдвиги в гематологических и биохимических параметрах, вполне определенно свидетельствуют о высокой степени токсичности ЭХА в дозе 30 мг/кг. Применение таких доз является неоправданным, требуется более четкая проработка вопроса о дозировании препарата и способах его введения при различных физиологических и патологических состояниях.

Выводы. В условиях эксперимента кардиопротективный препарат ЭХА при десятидневном курсе инъекций в дозе 1 мг/кг не приводит к значимым гематологическим и биохимическим сдвигам в организме и не оказывает повреждающего воздействия на функции жизненно важных органов.

Курс инъекций ЭХА в дозе 30 мг/кг вызывает изменения гематологических и биохимических показателей, количественно более выраженных у самок крыс. Обнаружено развитие дистрофических, воспалительных и циркуляторных изменений внутренних органов, что может быть связано как с прямым токсическим действием ЭХА на эти органы, так и быть результатом нарушений, опосредованных развитием у крыс системного иммунопатологического процесса, обусловленного местнораздражающим действием препарата. Патологические изменения внутренних органов являются обратимыми: через 14 суток после заключительного введения ЭХА наблюдалась тенденция к нормализации практически всех изученных пара-

Таблица 1

Биохимические показатели сыворотки крови крыс, получавших ЭХА в дозах 1 и 30 мг/кг.

Показатели	Контроль	ЭХА 1 мг/кг	ЭХА 30 мг/кг	ЭХА-ОГ, 30 мг/кг
Глюкоза, мг%	107,6±19,6	175,9±10,1*	180,4±4,1*	127,5±10,2
Белок, г%	7,2±0,7	6,9±0,2	5,9±0,1	6,2±0,1
Трансаминазы: АЛТ (мкмоль.мл.ч.)	1,3±0,2	1,2±0,1	0,7±0,1*	1,3±0,1
АСТ (мкмоль.мл.ч.)	1,4±0,2	1,7±0,2	1,5±0,1	2,2±0,2 *
Креатинин (мкмол/л)	173,1±16,8	78,2±11,5*	140,9±14,3	43,9±5,5*
Мочевина (моль/л)	5,4±0,3	8,9±0,7 *	6,4±0,9	3,6±0,7*

Сокращения. ЭХА-ОГ – отсроченная группа после 14 дней восстановительного периода ЭХА. * – $p < 0.05$.

метров.

Полученные данные позволяют охарактеризовать ЭХА как токсичный препарат в дозе 30 мг/кг и практически безопасный в дозах 1 мг/кг и ниже. Учитывая выраженную биологическую активность ЭХА в дозе 1 мг/кг, перспективно продолжение работ по исследованию фармакологической активности малых доз ЭХА.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кривошапко О.Н., Попов А.М., Артюков А.А. Применение биоантиоксидантов при нарушениях липидного и углеводного обмена // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2009. – № 4-5. – С. 85–88.
2. Попов А.М., Цыбульский А.В., Артюков А.А., Кривошапко О.Н. Влияние лютеолина, розмариновой кислоты и эхинохрома А на иммунитет при моделировании стресс-индуцированной кардиопатологии // Росс. Аллергол. Журнал. – 2010. – № 5. – С. 228-230.
3. Bolton J.L., Trush M.A., Penning T.M. Role of quinones in toxicology // Chem. Res. Toxicol. – 2000. – V. 3. – P. 135-160.
4. Kruger-Zeitler E., Sullivan S.G., Stern A., Munday R. Effects of 1,4-naphthoquinone derivatives on red blood cell metabolism // J. Appl. Toxicol. – 1990. – V. 10. – P. 129-133.
5. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Echinochrome, a naturally occurring iron chelator and free radical scavenger in artificial and natural membrane systems // Life Sci. – 2005. – V. 76. – P. 863–875.
6. Munday R., Fowke E.A., Smith B.L., Munday C.M. Comparative toxicity of alkyl-1,4-naphthoquinones in rats: relationship to free radical production in vitro // Free Radic. Biol. Med. – 1994. – V. 16(6). – P. 725-731.
7. Munday R., Smith B.L., Munday C.M. Structure-activity relationships in the haemolytic activity and nephrotoxicity of derivatives of 1,2- and 1,4-naphthoquinone // J. Appl. Toxicol. – 2007. – V. 27(3). – P. 262-269.
8. Öllinger K., Brunmark A. Effect of hydroxyl substituent position on 1,4-naphthoquinone toxicity to rat hepatocytes // J. Biol. Chem. – 1991. – V. 266. – № 32. – P. 21496-21503.
9. Verma R.P. Anti-cancer activities of 1,4-naphthoquinones: a QSAR study // Anticancer Agents Med Chem. – 2006. – V. 6(5). – P. 489-499.

Tsibulskiy A.V.¹, Artyukov A.A.², Popov A.M.², Krivoshapko O.N.²

Estimation of toxicity manifestations in organ, hematological and biochemical indicators at exposure to high doses of echinochrome-1,4 naphthoquinone preparation extracted from sea urchins *Scaphechinus mirabilis*

¹Far-East Federal University

²Pacific Ocean Institute of Bioorganic Chemistry, Vladivostok

Data are quoted which characterize the echinochrome A effect on the organism of experimental animals in the doses range of 1 to 30 mg/kg body weight. An expressed toxicity of echinochrome A is demonstrated at its long administration in a dose of 30 mg/kg and its absence at a dose of 1 mg/kg. Data presented characterize effects on physical, hematological and biochemical indicators of the organism at a long exposure to the preparation. The conclusion is made that echinochrome A at a dose level of 30 mg/kg is hazardous to the organism and it seems necessary to conduct further investigations into the mode of action of the preparation at a dose of 1 mg/kg and lower.

УДК 615.015.35

Доклиническое токсикологическое изучение трансдермального пластыря с гипоксеном

Лосенкова С.О.,
Фёдоров Г.Н.

ГБОУ ВПО СГМА Минздравсоцразвития
России,
г. Смоленск

Проведено доклиническое изучение безопасности трансдермального пластыря с гипоксеном. Введение трансдермального пластыря с гипоксеном крысам в течение двух недель в дозах 75-1500 мг/кг не вызывает гибели животных. Применение повреждающих доз 150-1500 мг/кг приводит к снижению прироста общей массы, изменению поведенческих реакций, нарушению функции почек, а также развитию несмертельных патологических изменений со стороны цветочных органов крыс.

Ключевые слова: гипоксен, трансдермальный пластырь, субхроническая токсичность.

Введение. К трансдермальным лекарственным формам (ЛФ) относятся трансдермальные пластыри, гели, мази, трансдермальные терапевтические системы (ТТС), диски. В основе многих заболеваний лежит механизм запуска свободно-радикального окисления липидов. Ловушками свободных радикалов в

цепной реакции служат антиоксиданты. Трансдермальные ЛФ с антиоксидантами и антигипоксантами не зарегистрированы, поэтому авторы разработали и сконструировали состав трансдермального пластыря матричного типа с гипоксеном (натрия полигидроксифенилентиосульфатом). Гипоксен относится к

группе антиоксидантов и антигипоксантов. Трансдермальный пластырь предназначен для лечебно-профилактического применения в качестве гастропротекторного средства.

Большинство нежелательных побочных эффектов выявляется при доклиническом токсикологическом изучении лекарственного препарата в эксперименте на лабораторных животных [1], поэтому целью нашего исследования явилось изучение общетоксических свойств трансдермального гипоксена (ТГ) при его двукратном наложении (1 раз в 7 дней) в течение 2 недель [2]. 14-дневный период выбран с учётом изучения возможного кумулятивного действия ТГ и соответствует длительности применения у человека в течение 2-6 дней.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздрава России от 23 августа 2010 г. №708н). Использованный в работе трансдермальный гипоксен представляет собой пластырь матричного типа площадью 25 см² (в 1 см² содержится 2 мг гипоксена). В состав матричного слоя входит лекарственное вещество гипоксен, а также вспомогательные вещества: натрия метабисульфит, пропиленгликоль-1,2, поливинилпирролидон среднмолекулярный ПВП К30. Эксперименты по изучению субхронической токсичности поставлены на 168 половозрелых крысах породы Вистар массой 220-240 грамм (по 6 самок и 6 самцов в каждой группе). Болезненные манипуляции проводили под эфирным наркозом. Животные были разделены на 14 групп: 1 группа интактная, 3 опытные группы получали гипоксен трансдермально в дозах 75; 150; 1500 мг/кг (2,3,4 группы). Предварительно с кожи животного удаляли шерсть с помощью пинцета, обрабатывали кожу 20% спиртом этиловым и тщательно осушали поверхность. В соответствующих им 3 контрольных группах (5,6,7) применяли пластырь без ЛВ. В следующих 2 опытных группах ТГ применяли в дозах 150 и 1500 мг/кг массы (8,9), а в 2 контрольных (10,11) группах животные после 14-дневного введения ТГ или компонентов матрицы (для контроля) находились под наблюдением без пластыря в течение 7 дней. Животные двух групп (12,13) получали раствор гипоксена внутривентриально в дозах 11,8 и 23,6 мг/кг массы, соответствующих средней терапевтической и максимальной терапевтической дозам в пересчёте на животное. Для этого субстанцию препарата (ЗАО «Корпорация Олифен») растворяли в 5 мл/кг изотонического раствора натрия хлорида. Группа животных, получавшая внутривентриально изотонический раствор натрия хлорида в дозе 5 мл/кг, служила контролем для вышеперечисленных групп (14).

В ходе проведения эксперимента общее состояние животных изучали по тесту «Открытое поле» [2]. Ежедневно измеряли массу тела крыс. Через 13 дней эксперимента у животных собирали суточную мочу, оценивали прозрачность, относительную плотность и реакцию мочи (рН), изучали микроскопический состав осадка. Спустя сутки крыс декапитировали под эфирным наркозом и проводили биохимические, гематологические исследования крови, патологоанатомические (гистологические) исследования органов, предварительно определяли массу органов (печень, сердце, почки, надпочечники, селезёнка, тимус) [2]. Статистическую обработку результатов исследований проводили на ПЭВМ типа IBM PC/AT Pentium-IV с использованием пакета прикладных программ StatGraphics 5.0.

Результаты и их обсуждение. Поведение животных опытной группы, получавшей ТГ в повреждающей дозе 1500 мг/кг массы, достоверно отличалось от контрольной группы и группы сравнения в дозе 23,6 мг/кг по всем показателям. Была заметно снижена двигательная активность животных. При этом поведение группы животных, получавшей ТГ в дозе 75 мг/кг, достоверно не отличалось от контроля.

Анализ мочи показал повышение интенсивности её окраски (насыщенно-жёлтая, мутная) у животных, получавших трансдермальный гипоксен в дозе 1500 мг/кг. Повышенное содержание эритроцитов и белка в моче, соли в большом количестве – всё это свидетельствовало о повреждении мочевыводящей системы животных. В других опытных группах животных моча была прозрачной, цвет соломенно-жёлтый и по исследуемым показателям не отличалась от контрольных групп.

Результаты биохимического анализа сыворотки крови животных (крыс-самцов), получавших трансдермальный гипоксен в дозах 75, 150, 1500 мг/кг представлены в таблице 1.

Трансдермальное введение гипоксена в дозах 150 мг/кг и 1500 мг/кг в течение 14 дней привело к значительному повышению уровня общего билирубина в 33,3% и в 50% случаев, который не восстанавливался полностью в течение 7 дней по-

сле отмены препарата. Данные изменения, вероятно, связаны с нарушением функции печени (табл. 1).

При применении ТГ в дозах 150, 1500 мг/кг наблюдались случаи повышения уровня в крови общего холестерина относительно контроля и снижение относительно интактных значений ($p < 0,05$), а также повышение уровня общего белка и глобулинов относительно контрольных значений. В группе крыс, получавших ТГ в дозе 150 мг/кг, активность щелочной фосфатазы, а также уровень мочевины были достоверно выше контрольных значений, тогда как в опытной группе с дозой 1500 мг/кг была достоверно снижена активность щелочной фосфатазы относительно контроля ($p < 0,05$).

Все исследуемые дозы ТГ, кроме дозы 75 мг/кг, вызывали повышение активности трансаминаз по сравнению с интактными животными. Увеличение активности АсАТ связывают не только с негативным действием препарата на сердечную мышцу, но и системным действием на печень [1]. После 7-дневного периода восстановления активность АлАТ снижалась в отличие от активности АсАТ.

Выводы. 1. При введении трансдермального гипоксена в дозе 75 мг/кг исследуемые показатели достоверно не отличались от контрольных, а также значений группы сравнения.

2. Дозы 150 и 1500 мг/кг при трансдермальном введении гипоксена являются повреждающими, но не вызывают гибели животных.

Таблица 1

Сравнительные результаты биохимического анализа сыворотки крови экспериментальных животных при трансдермальном и внутрибрюшинном введении гипоксена; (M ±m, n = 6)

Группы	1 группа		2-3 группы 75 мг/кг		4-5 группы 150 мг/кг		6-7 группы 1500 мг/кг	
	Интактная	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	
Глюкоза, ммоль/л	14,53±1,67	16,03±1,26	15,50±1,10#	10,23± 2,56	8,78±2,04°□	9,27±1,17	5,93±0,32*°	
Билирубин общий, мкмоль/л	7,69±0,41	7,56±0,83	7,27±0,35	9,78±0,39	8,77±0,32*° (66,7%) 14,34±0,62°□ (33,30%)	7,86±0,38	15,35±0,53*°□ (50%) 4,60±0,33*	
Холестерин, ммоль/л	2,48±0,33	1,96±0,08	1,66±0,059* _	1,53±0,12	1,93±0,10*□	1,45±0,09 (83,3%) 2,06±0,01 (16,7%)	1,77±0,12* (83,3%) 2,47±0,10* (16,7%)	
Общий белок, г/л	73,00±7,00	60,83±3,54	64,83±2,24#	56,17± 3,14	76,17±1,23*°	52,83±1,54 (66,7%) 91,83±1,81 (33,30%)	66,67±3,36*° 109,83±3,60*° (33,30%)	
Альбумины, г/л	26,00±2,50	30,0±3,29	26,83±3,68#	22,50± 3,23	27,67±3,08°□	25,83±1,54 (33,30%) 12,50±1,10 (66,7%)	26,50±1,96° (33,3%) 13,50±1,10° (66,70%)	
Глобулин, г/л	47,00±2,78	30,83±1,46	38,01±2,45*	33,67±2,03	48,50±2,67*□	40,33±2,17 (66,7%) 66,0±3,11 (33,30%)	53,17±4,06 (66,7%)* 83,33±3,36*° (33,30%)*	
А/Г коэффициент	0,55±0,08	0,97±0,06	0,71±0,08# □	0,67±0,05	0,57±0,06°□	0,39±0,04 (33,30%) 0,31±0,04 (66,67%)	0,32±0,01° (33,3%)* 0,25±0,01*° (66,70%)	
АлАТмМ/л/час	1,45±0,08	1,59±0,32	1,52±0,27#	0,92±0,13	1,61±0,28*°	2,30±1,14	2,33±0,13°	
АсАТмМ/л/час	1,72±0,05	1,73±0,07	1,78±0,03#	1,86±0,07	2,58±0,06*	2,71±0,03	2,66±0,19	
Щелочная фосфатаза	315,83±14,81	149,23± 9,54	151,33± 12,87#	153,00±11,30	192,83± 7,81*°□	418,17± 10,16	267,67±18,64*	
Мочевина, мм/л	6,93±1,47	7,93±0,74	7,88±0,41	7,73±0,51	10,04± 0,69*°	7,83±0,14	6,58±1,0	

Группы	8-9 группы после отмены пластыря 150 мг/кг		10-11 группы через 7 дней после отмены пластыря 1500 мг/кг		12-14 группы внутрибрюшинное введение		
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	11,8 мг/кг	23,6 мг/кг
Глюкоза, ммоль/л	13,24±2,84	13,76±2,03	15,70±2,20	7,68±1,38	15,31±2,58	16,21±1,83	17,24±2,13
Билирубин общий, мкмоль/л	12,35±1,83 (16,7%) 5,34±0,42	13,04±1,25 (16,7%) 8,03±0,34* (83,30%)	7,75±0,55	15,40±0,80 (33,3%) 7,58±0,28 (66,67%)	7,11±0,76 12,28±0,40 (33,3%)	6,48±0,37*	6,37±0,36*
Холестерин, ммоль/л	2,08±0,07	1,64±0,07*	1,93±0,08 (66,67%) 2,17±0,18 (33,30%)	1,33±0,09	2,67±0,07	2,06±0,12*	2,17±0,09*
Общий белок, г/л	71,83±2,04	68,17±1,23*	82,0±3,0	76,50±2,50	69,00±3,93	93,17±3,95*	84,33±3,09*
Альбумины, г/л	30,67±2,63	27,83±0,79*	25,50±1,5	22,17±2,17	54,00±3,81	57,17±3,48	44,33±2,36*
Глобулин, г/л	41,16±2,43	40,34±1,05	56,50±2,5	54,33±3,67□	15,00±3,52	36,00±3,62*	40,00±2,75*
А/Г коэффициент	0,75±0,08	0,69±0,04	0,45±0,03	0,41±0,07	3,60±0,29	1,59±0,23*	1,11±0,18*
АлАТмМ/л/час	1,20±0,027	1,39±0,27	1,51±0,03	1,41±0,065	1,81±0,04	0,44±0,04*	0,61±0,02*
АсАТмМ/л/час	1,72±0,06	2,39±0,03*	2,38±0,1	2,29±0,09	2,55±0,05	2,08±0,04*	2,15±0,03*
Щелочная фосфатаза	241,83±5,24	208,12±4,62*	503,67±8,67	274±6,00*	266,83±3,66	228,33±6,28*	262,5±3,43
Мочевина, мм/л	7,12±0,43	6,48±0,23	6,43±0,93	7,17±0,53	6,25±0,23	6,43±0,46	6,08±0,24

Примечание: * - достоверно относительно контроля; # - достоверно относительно субстанции гипоксена в дозе 11,8 мг/кг; ° - достоверно относительно субстанции гипоксена в дозе 23,6 мг/кг; □ - достоверно относительно пластыря с гипоксеном после отмены препарата. В скобках указан % случаев для данного показателя

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Климкина, Е.И.: автореф. дис... канд. мед. наук - Смоленск. - 2006. - 18с.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. - Москва. -2005.

Losenkova S.O., Fyodorov G.N.

Pre-clinic toxicological investigations of a transdermal plaster with hypoxene

Smolensk State Medical Academy

A pre-clinic study of safety of transdermal plasters with hypoxene was performed. The application of the transdermal plaster with hypoxene at doses of 75 to 1500 mg/kg over two weeks did not cause the animals death. The application of deleterious doses of 150 to 1500 mg/kg results in decreasing growth of the general mass, changes in behavioral reactions, disturbances in renal functions, and the development of non-lethal pathologic changes in rat hemopoietic organs as well.

Материал поступил в редакцию 09.11.2011 года.

УДК 543.553: 615:613.015.12

Определение холинэстераз крови с использованием высокочувствительного амперометрического биосенсора на основе фермент-полиэлектродных нанопленок

Громова М.С., Крайнова Н.А.,
Торгонская А.А.,
Сиголаева Л.В., Рудакова Е.В.,
Махаева Г.Ф., Еременко А.В., Курочкин
И.Н.

Химический факультет, Московский
Государственный Университет,
Институт физиологически активных веществ Российской
академии наук,
г. Черноголовка

Разработан амперометрический планарный холиноксидазный биосенсор для высокочувствительного определения холина и активностей холинэстераз. С помощью биосенсора измерены уровни активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БХЭ) в экспериментах по их селективному ингибированию *in vitro* в препаратах крови мышей, а также при дозозависимом ингибировании АХЭ и БХЭ после введения мышам модельного фосфорорганического ингибитора. Биосенсорные измерения были валидизованы спектрофотометрически.

Ключевые слова: холиноксидаза, биосенсоры, анализ холинэстераз, кровь

Введение. Определение активности ацетилхолинэстеразы эритроцитов (КФ 3.1.1.7, АХЭ) и бутирилхолинэстеразы плазмы (КФ 3.1.1.8, БХЭ) является важной задачей как при проведении экспериментальных исследований в токсикологии, нейробиологии, фармакологии, так и в клинической практике – терапии, в т.ч. анестезиологии и клинической токсикологии. АХЭ эритроцитов и БХЭ плазмы используют в качестве чувствительных биомаркеров для детекции воздействия на организм фосфорорганических отравляющих веществ, пестицидов [1] и антихолинэстеразных лекарственных средств [2]. Уровень активности БХЭ определяет реакцию организма на введение миорелаксантов типа сукцинилхолина [3, 4], способность гидролизовать кокаин [5] и ряд лекарственных препаратов [6], характеризует защитные свойства организма при действии фосфорорганических токсикантов [7-9].

На сегодняшний день наиболее распространенным методом определения активности холинэстераз в крови является спектрофотометрия [10-13]. Развитие оптических методов достигло высокого уровня и позволяет осуществлять высокопроизводительный анализ холинэстераз в лабораторных условиях [14]. Основной проблемой спектрофотометрического определения холинэстераз в цельной крови методом Элмана является высокое базовое поглощение гемоглобина, приводящее к снижению чувствительности метода [12, 13]. В настоящее время растет потребность в определении этих ферментов в полевых условиях, что может быть достигнуто с использованием амперометрических биосенсоров за счет минимальной пробоподготовки и скорости анализа в цельной крови, поскольку их принцип действия исключает влияние гемоглобина, и возможности миниатюризации конструкции [15-17]. Разработан большой спектр проводящих поверхностей для создания амперометрических биосенсоров. Среди них наиболее часто используемыми материалами для создания рабочих электродов являются графит (пасты, стержни, печатные электроды), платина, золото [18, 19].

Одним из простых, дешевых и удобных способов формирования сенсорных покрытий практически на любой поверхности является метод последовательной адсорбции полиэлектролитов и ферментов (LBL). Он заключается в чередующейся электростатической адсорбции на некоторую поверхность компонентов, несущих противоположный заряд. Эта технология была успешно использована для создания амперометрических холиноксидазных биосенсоров [20-23]. Так, в статье [23] с помощью метода LBL на поверхности графитового стержня, покрытого медиатором оксидом марганца был сформирован бислой из холиноксидазы и полидиаллилдиметиламмоний хлорида (ПДДА) (в присутствии йодид-иона), чувствитель-

ность по холину составила $183,3 \text{ mA} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$. В работе [21] для создания биосенсора нанопленка $(\text{ПДДА}/\text{ХО})_x/(\text{ПВС}/\text{ПАА})_y/\text{МСУНТ}$ была нанесена на поверхность Pt-электрода, чувствительность по холину составила $176,5 \text{ mA} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$. Таким образом, метод LBL позволяет создавать биосенсоры различной структуры и состава и в качестве подложки может быть использован широкий спектр материалов.

Широко используемым и технологичным методом изготовления амперометрических биосенсоров является метод графаретной печати [24]. Технология графаретной печати является быстрой, дешевой и простой процедурой изготовления электродов и в комбинации с технологией LBL может быть удачно использована для создания широкого спектра чувствительных биосенсоров. Вместе с тем, в литературе не описаны холиноксидазные сенсоры, изготовленные на основе планарных электродов и технологии LBL, и исследования их возможностей для анализа биологических образцов.

Таким образом, целью настоящей работы явилась разработка амперометрического холиноксидазного биосенсора, на основе нанопленок ПДДА и холиноксидазы, нанесенных на поверхность графитового электрода, изготовленного по технологии графаретной печати и покрытого медиаторным слоем диоксида марганца. Была исследована возможность практического применения разработанного биосенсора для анализа холинэстераз в цельной крови, в том числе после воздействия ингибиторов холинэстераз в экспериментах *in vitro* и на целых животных. Проведена валидизация биосенсорного метода путем сравнения результатов биосенсорных измерений и стандартного спектрофотометрического определения активности холинэстераз.

Материалы и методы исследования. В настоящей работе были использованы следующие реактивы: холиноксидаза (Е.С. 1.1.3.17) из *Alcaligenes sp.* (13,5 Ед/мг), ацетилхолинэстераза (АХЭ, Е.С. 3.1.1.7) из эритроцитов человека (781,8 Ед/мг), бутирилхолинэстераза (БХЭ, Е.С. 3.1.1.8) из сыворотки крови лошади (264 Ед/мг) (Sigma); полидиаллилдиметиламмоний хлорид, 20% (масс.) (ПДДА, $M_w = 400000\text{-}500000 \text{ г/моль}$) (Aldrich); ацетилхолин (Sigma-Aldrich); 5,5'-дигиобис-2-нитробензойная кислота (ДТНБ), холин хлорид, ацетилтиохолин хлорид (АТХ), S-бутирилтиохолинхлорид (БТХ) (Sigma); бутирилхолин (БХ, синтезирован в лаборатории органического синтеза каф. Химической энзимологии Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова); (-)-гуперзин А, диэтил-4-нитрофениловый эфир фосфорной кислоты (параоксон), тетрамоизопропилпирофосфотетрамид (изо-ОМ-ПА) (Sigma); 4-аминоантипирин (Acros organics). Модельный дибутилфосфат синтезирован и любезно предоставлен в.н.с. Института физиологически активных веществ РАН к.х.н. Ак-

синенко А.Ю. Для изготовления планарных электродов использовалась проводящая графитовая паста (C2050517D1, Gwent).

Остальные реактивы были марки Х.Ч. и использовались без предварительной очистки. Все растворы готовились в деионизованной воде, полученной при помощи системы очистки воды Milli-Q (18,2 МΩ см).

Создание планарных графитовых электродов

Изготовление планарных электродов проводилось по методу трафаретной печати с использованием полуавтоматической машины Winon (модель WSC-160B). Графитовый слой наносили на поливинилхлоридные подложки толщиной 0,2 мм через трафарет с сеткой 200 меш. Затем электроды прогревали при температуре 60°C в течение двух часов.

Формирование пероксидчувствительного слоя

Формирование пероксидчувствительного слоя проводили по методу, описанному в работе [25], путём нанесения капли (10 мкл) раствора коллоидных частиц оксида марганца (IV) на предварительно сформированную методом трафаретной печати поверхность. После полного высыхания капли электроды промывали деионизованной водой в течение 1 мин и выдерживали 1 час при T=60°C. Модифицированные электроды могли храниться при комнатной температуре в течение 3 месяцев.

Формирование холиноксидазного биосенсора

Перед нанесением полиэлектролитов рабочую поверхность электрода диаметром 2,5 мм ограничивали изолирующей плёнкой. Слой ПДДА наносили путем адсорбции из капли (5 мкл) 1 мг/мл раствора ПДДА в 50 мМ фосфатном буфере, pH 7,0 в течение 40 мин, после чего 1 минуту промывали дистиллированной водой, для удаления неспецифически адсорбированных молекул. Полученный слой поликатиона высушивали в эксикаторе над силикагелем в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем наносили каплю (5 мкл) 0,75 мг/мл раствора ХО (рI 4,1) в 50 мМ Hepes, 30 мМ KCl, pH 7,5, выдерживали 10 мин и снова промывали водой 1 минуту. Нанесение всех компонентов проводилось в климатической камере при 25°C и относительной влажности воздуха 60%. После высушивания в течение 20 мин на открытом воздухе при комнатной температуре, готовые электроды использовали для измерений.

Готовые холиноксидазные биосенсоры хранили с осушителем при 4°C.

Измерение электрохимических откликов

Электрохимические исследования проводили на потенциостате-гальваностате IPC-comrast (Институт физической химии РАН, Москва, Россия). Амперометрические измерения холина проводили в 1 мл двухэлектродной ячейке с перемешиванием, снабженной Ag/AgCl электродом, относительно которого поддерживался заданный потенциал (+480 мВ) на рабочем электроде. В качестве рабочего электрода использовали графитовый планарный электрод с нанесёнными на них фермент-полиэлектролитными слоями. Рабочий электрод погружали в ячейку, заполненную буферным раствором (50 мМ Hepes, 30 мМ KCl, pH 7,5), и измеряли отклик электрода на добавление стандартной концентрации холина (10^{-4} М).

Эксперименты на животных

В экспериментах использовали самцов белых аутбредных мышей массой 25-30 г. Дибутилфосфат растворяли в ДМСО и вводили в/бр в дозах 0,5-2000 мг/кг в объеме около 0,1 мл. Контрольные животные получали только ДМСО. Через 1 час после введения мышей декапитуировали, кровь собирали в стеклянные стаканы, которые предварительно ополаскивали 3,8% цитратом натрия. В качестве антикоагулянта добавляли гепарин (20 мл раствора 500 Ед/мл). Затем кровь переносили в пластиковые пробирки, замораживали в жидком азоте и хранили при

-70°C до проведения измерений. Для постановки электрохимического метода определения холинэстераз в крови и исследований *in vitro* использовали кровь интактных животных.

Приготовление гемолизата крови для анализа

Замороженную и хранящуюся при -70°C кровь оттаивали на водяной бане со льдом. Затем готовили 1:100 гемолизаты путем разбавления 1 объема крови в 100 объемах охлажденного на водяной бане со льдом 0,1 М натрий фосфатного буфера, pH 7,5. После тщательного перемешивания алиquotированные гемолизаты немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при -70°C до проведения анализов. Непосредственно перед началом анализа образцы оттаивали при комнатной температуре.

Электрoхимическое определение активности бутирилхолинэстеразы

Активность БХЭ определяли путем детекции холина, выделяющегося после 30 мин инкубации гемолизата (или коммерческого препарата фермента) с 10 мМ бутирилхолином при комнатной температуре. Содержание гемолизата в инкубационной смеси составляло 50%. Далее электрохимическое определение накопившегося холина проводили в электрохимической ячейке при разбавлении аликвоты инкубационной смеси в 25 раз. При тех же условиях был измерен спонтанный гидролиз бутирилхолина и вычтено фоновое значение холина в субстрате. Коммерческий препарат БХЭ растворяли в 0,1 М натрий фосфатном буфере, содержащем 1 мг/мл БСА, pH 7,5.

Ингибирование активности бутирилхолинэстеразы в крови мышей изо-ОМПА

Для ингибирования активности БХЭ изо-ОМПА в инкубационную смесь добавляли водный раствор ингибитора в диапазоне концентраций $3 \cdot 10^{-9} \div 1,7 \cdot 10^{-2}$ М. Смесь инкубировали с ингибитором в течение 10 минут при комнатной температуре, затем реакцию с ингибитором останавливали добавлением избытка бутирилхолина и определяли остаточную активность фермента. Конечная концентрация бутирилхолина в инкубационной смеси составляла 10 мМ, разведение гемолизата в инкубационной смеси в два раза. Смесь инкубировали с бутирилхолином 30 минут, далее проводили электрохимическое определение накопившегося холина (при разбавлении инкубационной смеси в 25 раз). При тех же условиях был измерен спонтанный гидролиз субстрата и контрольная проба без ингибитора. При расчете процента ингибирования из полученных значений откликов было вычтено фоновое значение холина в субстрате.

Электрохимическое определение активности ацетилхолинэстеразы

Активность АХЭ определяли путем детекции холина, выделяющегося после 30 мин инкубации гемолизата (или коммерческого препарата фермента) с 3 мМ ацетилхолином при комнатной температуре. Для вычленения активности АХЭ осуществлялась 10 мин преинкубация гемолизата со специфическим ингибитором БХЭ изо-ОМПА (0,9 мМ) [26]. Разведение гемолизата в инкубационной смеси в два раза. Далее проводили электрохимическое определение накопившегося холина (разбавление инкубационной смеси в 25 раз). При тех же условиях был измерен спонтанный гидролиз ацетилхолина и вычтено фоновое значение холина в субстрате. Коммерческий препарат АХЭ растворяли в 0,1 М натрий фосфатном буфере, содержащем 1 мг/мл БСА, pH 7,5.

Ингибирование активности ацетилхолинэстеразы в крови мышей (-)-гуперзином А

Для ингибирования активности АХЭ гуперзином А в инкубационную смесь добавляли водные растворы изо-ОМПА (0,9 мМ) и (-)-гуперзина А в диапазоне концентраций $10^{-6} \div 10^{-5}$ М. Смесь инкубировали с ингибиторами в течение 10 минут при комнатной температуре, затем реакцию с ингибитором останавливали добавлением избытка ацетилхолина и определяли остаточную активность фермента. Конечная концентрация ацетилхолина в инкубационной смеси составляла 3 мМ. Разведение гемолизата в инкубационной смеси в два раза. Смесь инкубировали 30 минут, далее проводили электрохимическое определение накопившегося холина при разбавлении аликвоты инкубационной смеси в электрохимической ячейке в 25 раз. При тех же условиях был измерен спонтанный гидролиз субстрата и контрольная проба без ингибитора. При расчете процента ингибирования из полученных значений откликов было вычтено фоновое значение холина в субстрате.

*Ингибирование АХЭ и БХЭ активностей крови мышей специфическими ингибиторами в экспериментах *in vitro* (спектрофотометрический метод)*

Для ингибирования активности БХЭ изо-ОМПА в лунки планшета раскапывались следующие растворы: 2 мкл раствора ингибитора в диапазоне концентраций $3,35 \cdot 10^{-9} - 2 \cdot 10^{-3}$ М; 25 мкл гемолизата крови. Гемолизат инкубировали с ингибитором в течение 10 минут при комнатной температуре, затем туда же добавляли 150 мкл свежеприготовленной смеси, содержащей 0,47 мМ ДТНБ и 1,65 мМ БТХ в натрий фосфатном буфере pH 7,5 и определяли остаточную активность фер-

мента. При этом конечная концентрация бутирилтиохолина составила 1,4 мМ, а объемная доля гемолизата была равна 14,1 %. При тех же условиях измеряли спонтанный гидролиз субстрата и активность контрольной пробы, не содержащей ингибитор. Скорость образования окрашенного продукта определялась спектрофотометрически при длине волны 405 нм в кинетическом режиме на планшетном спектрофотометре BIO-RAD xMark™.

Для ингибирования активности АХЭ (-)-гуперзином А в лунки планшета раскапывались: 10 мкл изо-ОМПА (концентрация в инкубационной смеси 0,9 мМ), 5 мкл раствора (-)-гуперзина А (диапазон концентраций 10^{-6} - 10^{-10} М), 25 мкл гемолизата и 80 мкл натрий фосфатного буфера. Смесь инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре, затем туда же добавляли 7 мкл 12 мМ ДТНБ и 50 мкл 10 мМ АТХ и определяли остаточную активность фермента. Конечная концентрация АТХ в реакционной смеси составила 2,82 мМ, объемная доля гемолизата 14,1 %. При тех же условиях измеряли спонтанный гидролиз субстрата и контрольная проба без ингибитора. Скорость образования окрашенного продукта определялась спектрофотометрически при длине волны 405 нм в кинетическом режиме на планшетном спектрофотометре BIO-RAD xMark™.

Обработка данных

За величину аналитического сигнала биосенсора принимали разность величин стационарного тока до и после введения пробы. Данные представлялись как среднее \pm SE на основании не менее трех измерений отклика биосенсора, полученных в одинаковых условиях.

Воспроизводимость изготовления биосенсоров (RSD, %) определяли как разброс значения отклика на введение стандартной концентрации холина 10^{-4} М для 10 электродов.

Операционную стабильность биосенсоров характеризовали величиной инкремента падения за одно измерение, которая рассчитывалась по тангенсу угла наклона зависимости отклика электрода от номера измерения по формуле: $D=(tg/I_i) \cdot 100\%$.

Для обработки данных использовали программный пакет OriginPro7.

Результаты и их обсуждение.

Холиноксидазный биосенсор

Холиноксидазные электроды получали с использованием метода послойного нанесения полиэлектролитов. Пленки ПДДА и ХО последовательно наносились на поверхность планарного графитового электрода, модифицированного медиатором диоксидом марганца, формируя бислойную структуру ПДДА/ХО. Схематическое изображение биосенсора и принципа его работы представлено на рис. 1.

Электрохимическая активность биосенсора определяется скоростью ферментативного окисления добавляемого в систему холина, сопровождающаяся выделением двух молекул пероксида водорода. Пероксид водорода вступает в реакцию с медиатором MnO_2 , находящимся на поверхности электрода, приводя к образованию $Mn^{2+/3+}$. Отклик биосенсора представляет собой величину тока электроокисления $Mn^{2+/3+}$ до Mn^{4+} , прямо пропорциональную концентрации выделяющегося пероксида водорода, которая в свою очередь определяется концентрацией вводимого холина.

При разработке биосенсора были подобраны оптимальные условия адсорбции (описанные в разделе «Материалы и методы исследования») фермента и полиэлектролита на поверхность электрода.

Зависимость отклика полученного биосенсора от концентрации холина в электрохимической ячейке приведена на рис. 2.

Из полученной зависимости был рассчитан порог обнаружения по холину, который составил $1 \cdot 10^{-7}$ М (сигнал/шум=3) и чувствительность биосенсора $340 \text{ мА} \cdot \text{М}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$. Сенсор характеризуется широким линейным диапазоном измеряемых концентраций $2 \cdot 10^{-7}$ – $4 \cdot 10^{-4}$ М. Эффективная константа Михаэлиса холиноксидазы, включенной в состав пленки, была рассчитана методом нелинейной регрессии и составила $0,75 \pm 0,4$ мМ. Полученное значение $K_M^{\text{эфф}}$ совпадает в пределах ошибки со значением K_M нативного фермента ($1,03 \pm 0,3$ мМ).

Операционная стабильность биосенсоров, определенная по 10 последовательным измерениям, составила $-0,1 \pm 0,1\%$. Воспроизводимость отклика от сенсора к сенсору составила $4,1\%$. Электроды сохраняют не менее 50% активности при

хранении с осушителем при 4°C в течение 5 месяцев.

Применение холиноксидазного биосенсора для анализа холинэстераз в крови

Исследована возможность использования разработанного биосенсора для электрохимического определения активности холинэстераз в крови.

Для стандартизации процедуры пробоподготовки была использована следующая схема. Свежая или оттаявшая после хранения при -70°C цельная кровь разбавлялась буферной средой в 100 раз и быстро замораживалась при -70°C (или в жидком азоте) для разрушения форменных элементов. Подготовленные таким образом образцы крови (гемолизаты) могли храниться в течение нескольких месяцев при той же температуре до использования без заметного снижения активности целевых ферментов.

В настоящей работе была использована следующая схема определения активностей АХЭ и БХЭ (рис. 3). Для определения активности АХЭ требуется количество гемолизата инкубируют с селективным ингибитором БХЭ в течение 10 минут, после чего туда же добавляют субстрат ацетилхолин и инкубируют в течение времени t_1 . Для определения активности БХЭ гемолизат инкубируют с бутирилхолином в течение времени t_2 (здесь и далее такую смесь, содержащую гемолизат, ингибитор, субстрат, будем называть *инкубационной смесью*.) Затем аликвоту инкубационной смеси переносят в электрохимическую ячейку с буфером. Как было показано в предварительных экспериментах, 25-ти кратное разбавление инкубационной смеси, происходящее в электрохимической ячейке, приводит к остановке ферментативного гидролиза. Далее измеряют количество холина, накопившегося к моменту остановки реакции разбавлением, используя холинксидазный биосенсор. Отклик биосенсора на образовавшийся в инкубационной смеси холин пропорционален активности соответствующего фермента в гемолизате.

Постановка биосенсорной методики анализа холинэстераз включала два основных этапа. Первый этап – оценка влияния гемолизата на определение холина, подбор оптимального содержания гемолизата в инкубационной смеси и времени инкубации с субстратами, концентраций субстратов. Второй этап представлял собой систему доказательства достоверности измеряемой ферментативной активности.

Для определения оптимального уровня содержания гемолизата в инкубационной смеси и в электрохимической ячейке учитывали два фактора: высокое содержание гемолизата в инкубационной смеси и, соответственно, в измерительной ячейке вызывает уменьшение активности датчика, но вместе с тем это позволяет накапливать большее количество продукта и таким образом увеличить чувствительность анализа. При исследовании влияния разбавления гемолизата в измерительной ячейке на отклик используемых сенсоров было показано, что разбавление гемолизата в электрохимической ячейке в 50 (и более) раз не оказывает заметного влияния на аналитические характеристики биосенсора. В связи с этим, разбавление гемолизата в инкубационной смеси в 2 раза и последующее 25-кратное разбавление в ячейке (50-кратное разбавление гемолизата) оказалось оптимальным и было использовано для дальнейших экспериментов.

Была исследована кинетика накопления холина в процессе ферментативного гидролиза больших и малых концентраций АХ и БХ в крови мышей. Данные представлены на рис. 4.

Как видно из графика, во всем исследуемом временном диапазоне и для разных концентраций субстратов наблюдается линейная зависимость отклика сенсора от времени инкубации (начальная скорость гидролиза). Чем больше время инкубации, тем выше чувствительность метода. Однако общая продолжительность процедуры определения активности ферментов должна быть максимально снижена. Для определения начальной скорости ферментативного гидролиза АХ и БХ было выбрано время 30 мин, находящееся на линейном участке.

Зависимости скоростей ферментативного гидролиза АХ и БХ под действием АХЭ и БХЭ крови от концентрации соответствующих субстратов представляют собой гиперболические кривые с насыщением (рис. 5). 90% отклика достигается при концентрациях АХ и БХ, соответственно 3 мМ и 10 мМ.

Таким образом, используя подобранные условия, можно измерять активности холинэстераз в формате «конечной точки» по количеству холина, накопившегося в инкубационной

смеси в течение фиксированного периода времени, и его последующей детекции с использованием холиноксидазного биосенсора.

Для оценки достоверности определения эстераз в крови с использованием нового амперометрического биосенсора были проведены следующие эксперименты. Был исследован эффект матрицы и получены калибровочные зависимости по концентрациям коммерческих препаратов ферментов в чистых буферных растворах и в присутствии гемолизата. Затем были проведены эксперименты по валидации биосенсорных измерений активности холинэстераз с использованием стандартного спектрофотометрического метода в опытах по селективному *in vitro* ингибированию наблюдаемых активностей каждого фермента в цельной крови (гемолизате) и в экспериментах на животных (мышах) по измерению активностей эстераз, после введения возрастающих доз фосфорорганического ингибитора.

Зависимость активности коммерческих препаратов АХЭ эритроцитов человека и БХЭ сыворотки крови лошади от их концентрации в присутствии и в отсутствие гемолизата в инкубационной смеси представлены на рис. 6 и 7. Полученные зависимости представляют собой параллельные прямые, что свидетельствует о вкладе только собственной АХЭ или БХЭ активности гемолизата и отсутствии влияния матрицы на амперометрический сигнал.

Из полученных зависимостей откликов сенсоров от концентраций коммерческих препаратов ферментов в буферном растворе были рассчитаны пределы обнаружения этих ферментов на основании минимально определяемых концентраций холина, вычисленных при соотношении сигнал/шум = 3. Пределы обнаружения АХЭ и БХЭ составили 4,5 и 2 нмоль/мин/мл, соответственно.

Селективное ингибирование *in vitro* активностей АХЭ и БХЭ в цельной крови проводили с использованием гемолизата крови мышей и следующих ингибиторов: изо-ОМПА для БХЭ и (-)-гуперзина А – для АХЭ [27]. Измерение остаточной активности эстераз в препаратах крови проводилось электрохимически в оптимальных условиях согласно разработанному формату анализа и спектрофотометрически по стандартным методикам. В спектрофотометрическом методе для определения активности АХЭ и БХЭ использовали тиааналоги субстратов - ацетилтиохолин и бутирилтиохолин.

Кривые титрования ферментативных активностей (зависимости % ингибирования от концентрации ингибитора), полученные биосенсорным и спектрофотометрическим методами, оказались достаточно близки, даже при условии использования разных субстратов (рис. 8). В обоих случаях наблюдалось практически 100% ингибирование активности целевого фермента соответствующим специфическим ингибитором.

В таблице 1 приведены величины IC_{50} для каждого фер-

мента, полученные двумя методами. Из таблицы видно, что сравниваемый аналитический параметр имеет близкие значения при использовании спектрофотометрической и биосенсорной методик, что подтверждает достоверность и корректность определяемых активностей ферментов и является успешным результатом первого этапа валидации разработанного формата анализа.

Для исследования возможности применения биосенсорного определения активностей АХЭ и БХЭ при отравлениях ФОС с использованием спектрофотометрической и биосенсорной методик было проведено измерение активностей АХЭ и БХЭ в крови мышей через 1 час после в/бр введения возрастающих доз модельного дибутилфосфата ($C_4H_9O_2P(O)OSn(CF_3)_2$ ($LD_{50} > 2000$ мг/кг)).

Результаты дозозависимого ингибирования БХЭ и АХЭ в крови мышей, полученные двумя методами, представлены на рис. 9 в виде % ингибирования эстераз (в сравнении с контролем) от дозы дибутилфосфата. Показано, что БХЭ является более чувствительным биомаркером по сравнению с АХЭ ($ED_{50} = 26,4 \pm 2,4$ и $132,5 \pm 8,7$ мг/кг ($N=6$), соответственно). Наблюдается хорошее соответствие между результатами, полученными обоими методами: зависимости между величинами активностей АХЭ и БХЭ, измеренными спектрофотометрически и с использованием биосенсора, характеризуются высокими коэффициентами корреляции - 0,99 и 0,98, соответственно. Полученные данные подтверждают достоверность и валидность биосенсорных измерений и демонстрируют применимость нового биосенсора для биомониторинга воздействия ФОС на живые организмы, в том числе на человека.

Выводы. С использованием технологии LBL разработан высокочувствительный планарный холиноксидазный биосенсор на основе нанопленок ХО и ПДДА. Продемонстрировано его практическое использование на примере определения АХЭ и БХЭ в цельной крови мышей. Высокая чувствительность биосенсора позволяет определять холинэстеразы в низких концентрациях, что обуславливает использование малых количеств (несколько мкл) пробы для анализа. Показана применимость нового биосенсора для биомониторинга воздействия ФОС на живые организмы. Разработанный амперометрический биосенсор может быть использован в полевых условиях, а также в режиме «у постели больного» за счет минимальной пробоподготовки, быстроты анализа в цельной крови, низкой стоимости одного анализа и возможности миниатюризации конструкции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Грантов РФФИ 11-08-01306-а и 10-08-00895-а и гранта НАТО sfr 984082.

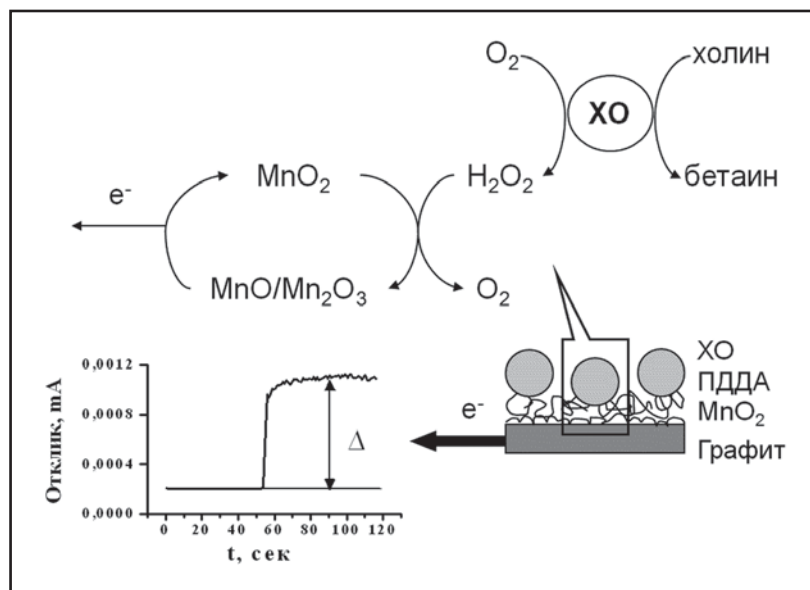


Рис. 1. Схематическое изображение холиноксидазного биосенсора и принципа его работы.

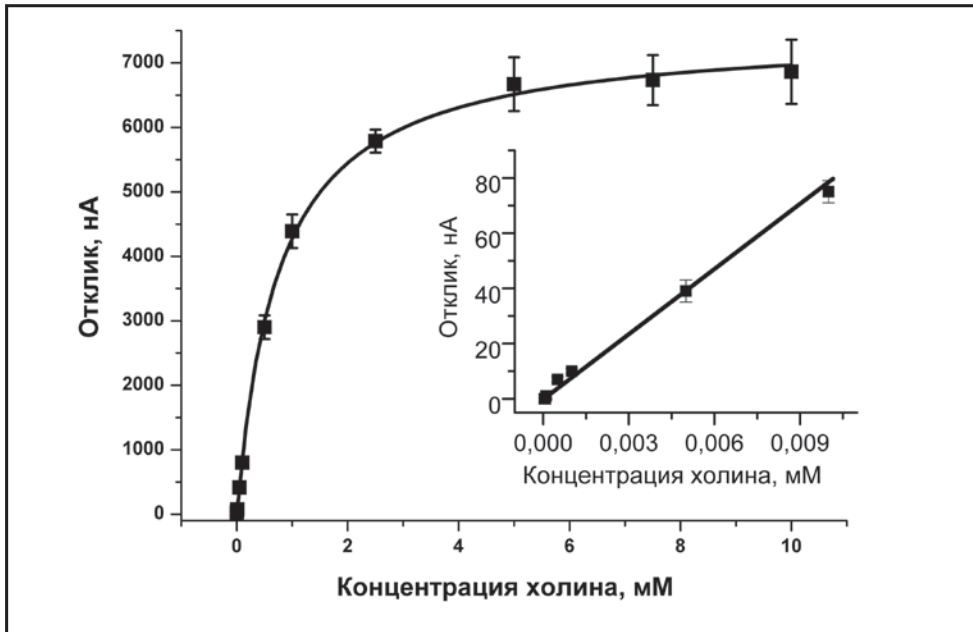


Рис.2. Зависимость отклика биосенсора от концентрации холина в электрохимической ячейке. Концентрации холина $1 \cdot 10^{-7} \div 1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$.

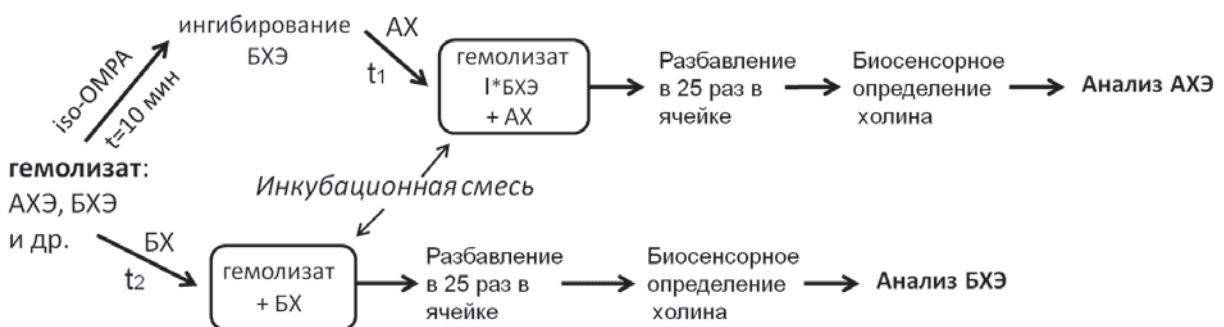


Рис. 3. Общая схема определения активностей ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы в крови. I*БХЭ - заингибированная БХЭ

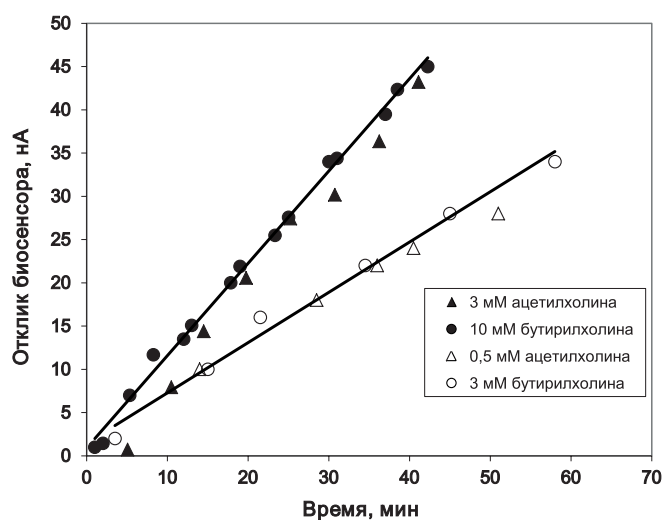


Рис. 4. Кинетические кривые накопления холина при ферментативном гидролизе бутирилхолина и ацетилхолина под действием БХЭ и АХЭ в крови мышей. Условия для АХЭ: 20 мкл гемолизата, 0,9 мМ изо-ОМПА. Условия для БХЭ: 20 мкл гемолизата.

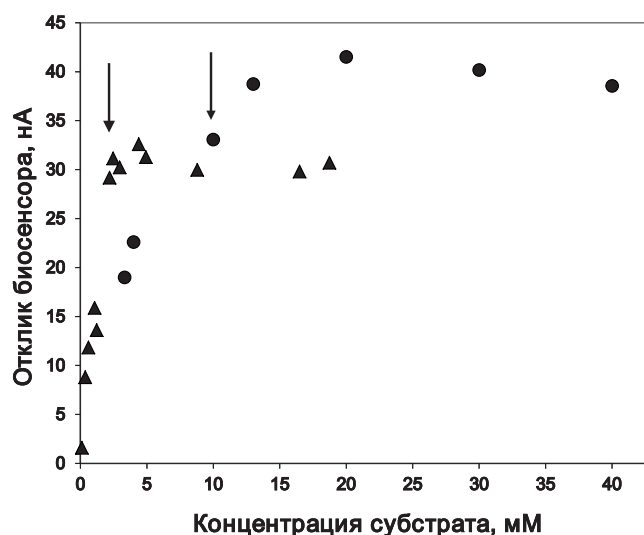


Рис. 5. Зависимость ферментативного гидролиза ацетилхолина (▲) и бутирилхолина (●) под действием АХЭ и БХЭ крови. Условия для АХЭ: объем инкубационной смеси 40 мкл, 20 мкл гемолизата, 0,9 мМ изо-ОМПА, время преингибирования 10 мин, время инкубации с субстратом 30 минут, концентрация АХ 0,12-18,8 мМ. Условия для БХЭ: объем инкубационной смеси 40 мкл, 20 мкл гемолизата, время инкубации с субстратом 30 минут, концентрация БХ 3,3-40,0 мМ.

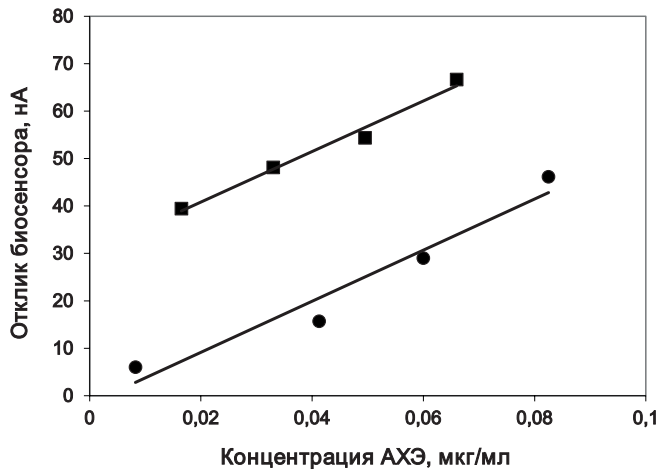


Рис. 6. Зависимость активности АХЭ, измеренной биосенсорным методом от концентрации коммерческого препарата АХЭ в чистом буферном растворе ($\frac{3}{4} \frac{3}{4}$) и в присутствии гемолизата крови ($\frac{3}{4} \frac{3}{4}$), преинкубированного в течение 10 мин с изо-ОМПА (0,9 мМ). Условия: объем инкубационной смеси 40 мкл, 20 мкл гемолизата, 3 мМ ацетилхолина, время инкубации с субстратом 30 минут.

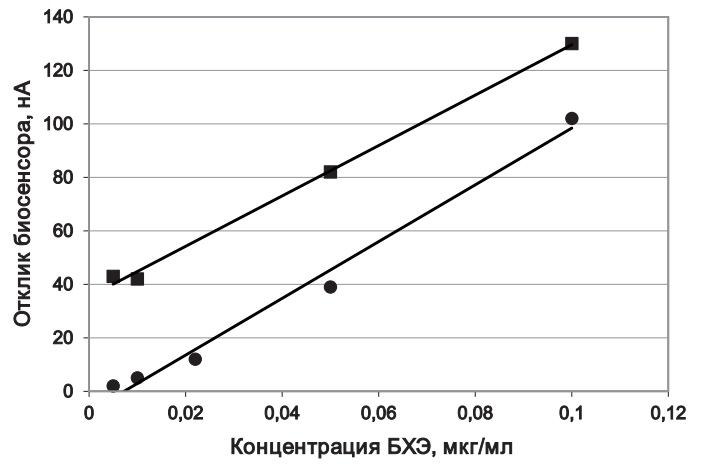


Рис. 7. Зависимость активности БХЭ, измеренной биосенсорным методом, от концентрации коммерческого препарата БХЭ в чистом буферном растворе ($\frac{3}{4} \frac{3}{4}$) и в присутствии гемолизата крови ($\frac{3}{4} \frac{3}{4}$). Условия: объем инкубационной смеси 40 мкл, 20 мкл гемолизата, 10 мМ бутирилхолина, время инкубации с субстратом 30 минут.

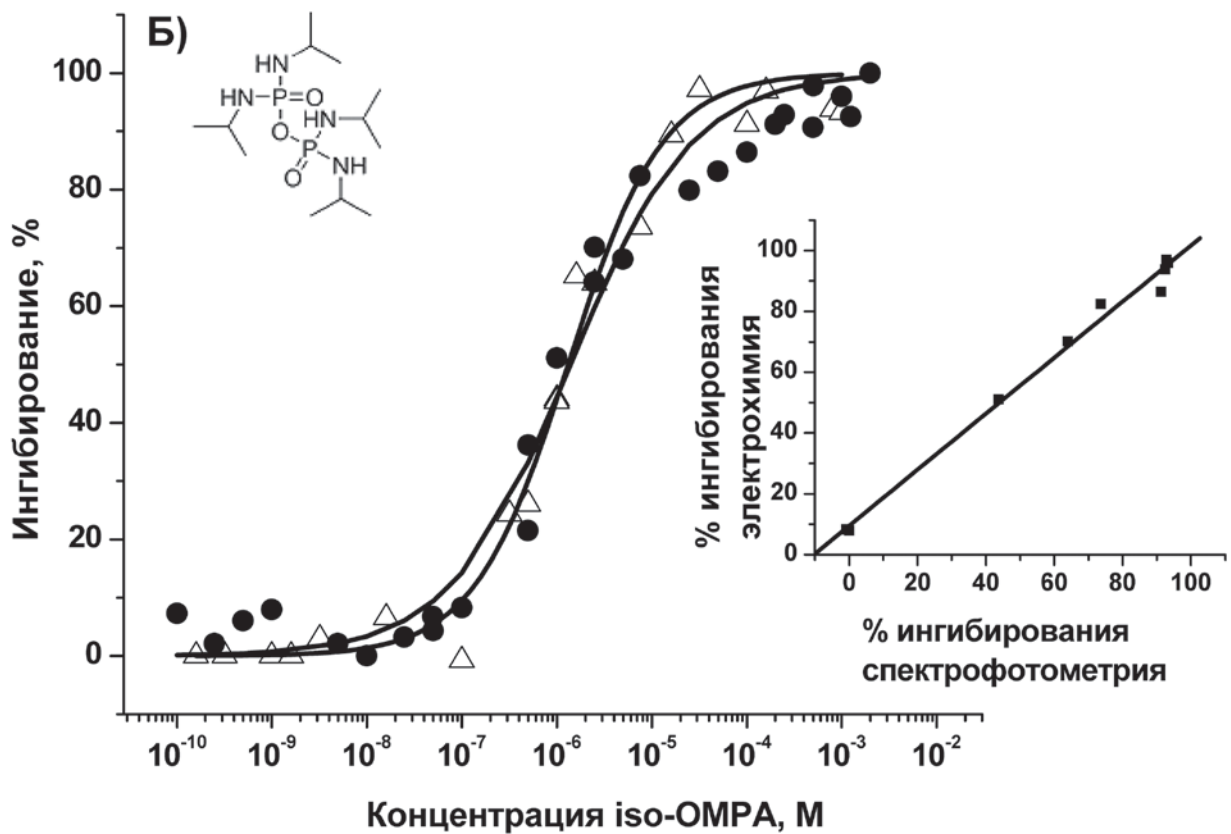
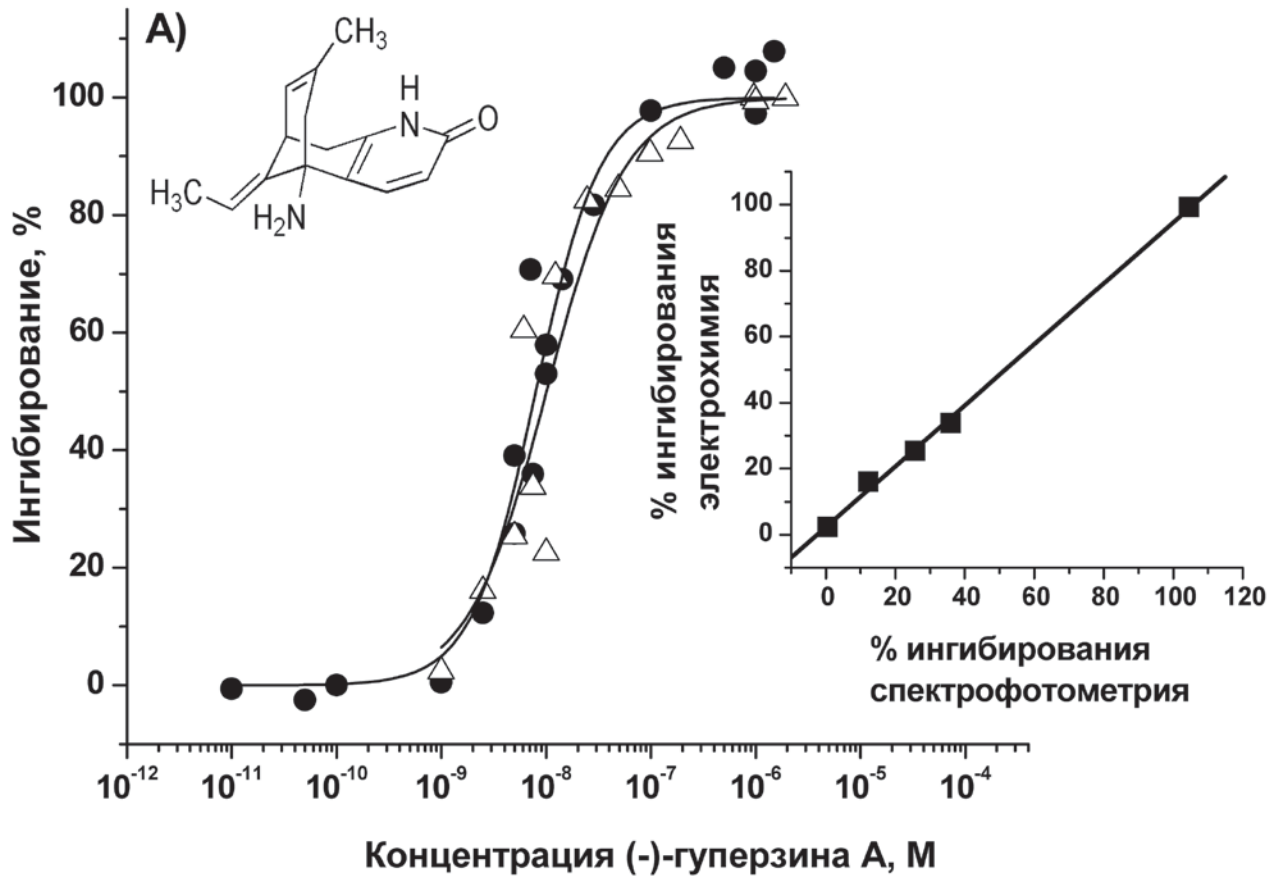


Рис.8. Кривые титрования активности А) АХЭ (-)-гуперзином А, Б) БХЭ изо-ОМПА в крови мышей, полученные при использовании спектрофотометрической (●) и электрохимической (Δ) методик. На вставке: корреляция между результатами измерения, полученными электрохимическим и спектрофотометрическим методами. Для АХЭ R = 0,999, для БХЭ R = 0,987.

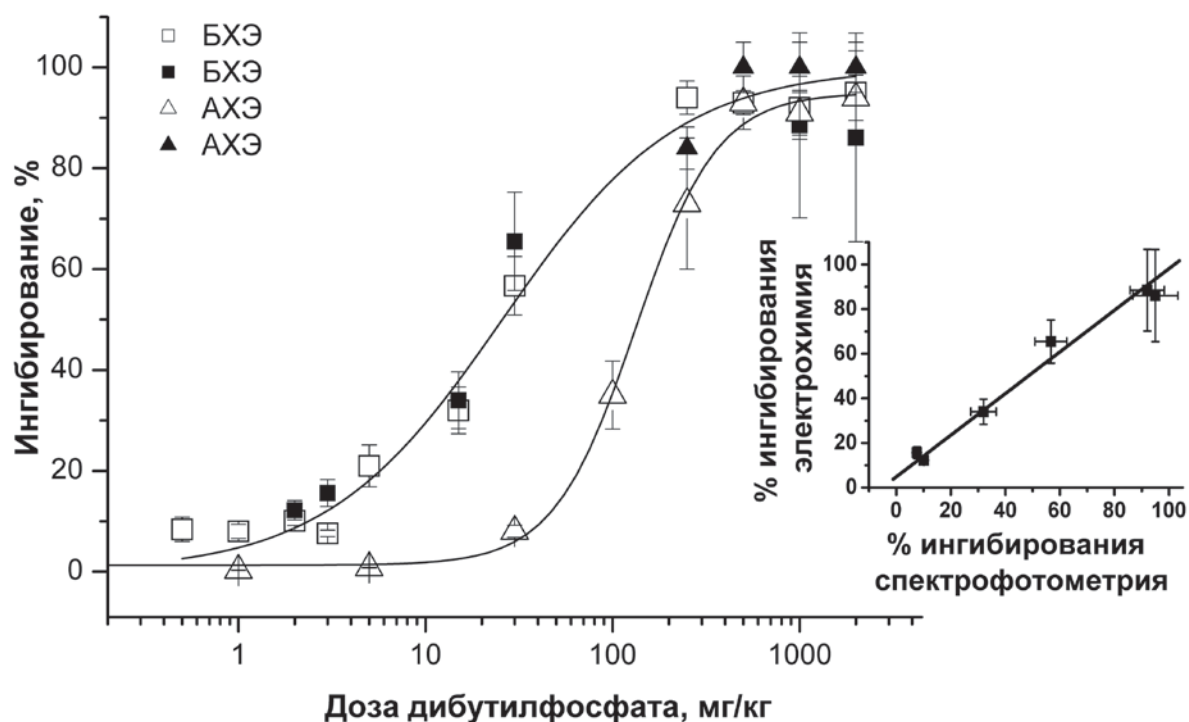


Рис. 9. Доз-зависимое ингибирование БХЭ и АХЭ в крови мышей через 1 час после в/бр введения дибутилфосфата $(C_4H_9O)_2P(O)OCH(CF_3)_2$, N=4-6. Активности эстераз в цельной крови определяли спектрофотометрически (открытые символы) и биосенсорными методами (заштрихованные символы) и представляли в виде % ингибирования активности соответствующей эстеразы у контрольных животных. Активности эстераз у контрольных животных (спектрофотометрия) в мкмоль/мин/мл крови, АХЭ - $0,83 \pm 0,04$ (N=18), БХЭ - $0,63 \pm 0,03$ (N=20). Активности у контрольных животных (биосенсорные методы) в мкмоль/мин/мл крови, АХЭ - $0,76 \pm 0,09$ (N=5), БХЭ - $0,85 \pm 0,03$ (N=5). На вставке представлена корреляция двух методов при определении БХЭ.

Таблица 1

Значения IC_{50} ингибирования *in vitro* специфическими ингибиторами АХЭ и БХЭ крови мышей по результатам спектрофотометрической и электрохимической методик.

	$IC_{50}(АХЭ) \pm SE, M$	$IC_{50}(БХЭ) \pm SE, M$
Ингибитор	(-)-гуперзин А	изо-ОМПА
Спектрофотометрия	$(2,9 \pm 0,4) \times 10^{-9}$	$(1,4 \pm 0,1) \times 10^{-6}$
Электрохимия	$(0,8 \pm 0,06) \times 10^{-9}$	$(0,85 \pm 0,05) \times 10^{-6}$

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Richardson R.J. Anticholinesterase insecticides. In: Comprehensive Toxicology, (McQueen C.A. Ed.) // Oxford: Academic Press, 2010. V. 13, P. 433-444.
- Giacobini E. Cholinesterases: new roles in brain function and in Alzheimer's disease // *Neurochem Res.*, 2003. – V. 28. – P. 515-22.
- Lockridge O. Genetic variants of human serum cholinesterase influence metabolism of the muscle relaxant succinylcholine // *Pharmacol. Therap.*, 1990. – V. 47. – P. 35-60.
- Pirmohamed M., Park B.K. Genetic susceptibility to adverse drug reactions // *Trends Pharmacol. Sci.*, 2001. – V. 22. – P. 298-305.
- Zhan C.G., Zheng F., Landry D.W. Fundamental reaction mechanism for cocaine hydrolysis in human butyrylcholinesterase // *J. Am. Chem. Soc.*, 2003. – V. 125. – №9. – P. 2462-2474.
- Wierdl M., Morton C.L., Danks M.K. et al. Isolation and characterization of a cDNA encoding a horse liver butyrylcholinesterase: evidence for CPT-11 drug activation // *Biochem. Pharmacol.*, 2000. – V. 59. – №7. – P. 773-81.
- Makhaeva G.F., Rudakova E.V., Boltneva N.P. et al. Blood Esterases as a Complex Biomarker for Exposure to Organophosphorus Compounds. In: "Counteraction to Chemical and Biological Terrorism in the East Europe Countries", NATO for Peace and Security Series, (Dishovsky C. and Pivovarov A., Eds.) // Springer, 2009. – P. 177-194.
- Masson P., Carletti E., Nachon F. Structure, activities and biomedical applications of human butyrylcholinesterase // *Protein Pept. Lett.*, 2009. – V. 16. – P. 1215-1224.
- Masson P., Nachon F., Broomfield C.A. et al. A collaborative endeavor to design cholinesterase-based catalytic scavengers against toxic organophosphorus esters // *Chem. Biol. Interact.*, 2008. – V. 175. – № 1-3. – P. 273-280.
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.J. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // *Biochem. Pharmacol.*, 1961. – V. 7. – P. 88-95.
- Okabe H., Sagesaka K., Nakajima N. et al. New enzymatic assay of cholinesterase activity // *Clin. Chim. Acta*, 1977. – V. 80. – P. 87-94.
- Worek F., Mast U., Kiderlen D. et al. Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood // *Clin Chim Acta*, 1999. – V. 288. – P. 73-90.
- Рудакова Е.В., Болтнева Н.П., Махаева Г.Ф. Сравнительный анализ эстеразной активности крови человека, мыши и крысы // *Бюл. Эксп. Биол. Мед.*, 2011. – Т. 152. – №7. – С. 80-83.
- Haigh J.R., Lefkowitz L.J., Capacio B.R. et al. Advantages of the WRAIR whole blood cholinesterase assay: comparative analysis to the micro-Ellman, Test-mate ChE, and Michel (DeltapH) assays // *Chem Biol Interact.*, 2008. – V.175. – P. 417-420.
- Sigolaeva L., Makhaeva G., Rudakova E. et al. Biosensor analysis of blood esterases for organophosphorus compounds exposure assessment: approaches to simultaneous determination of several esterases // *Chem Biol Interact.*, 2010. – V. 187. – P. 312-317.
- Wilson G. S., Hu Y. Enzyme-based biosensors for in vivo measurements // *Chem. Rev.*, 2000. – V. 100. – P. 2693-2704.
- Pohanka M., Hrabanova M., Kuca K. Diagnosis of intoxication by the organophosphate VX: Comparison between an electrochemical sensor and Ellman's photometric method. *Sensors*, 2008. – V.8. – P. 5229-5237.
- Chaubey A., Malhotra B. D. Mediated biosensors // *Biosens. Bioelectron.*, 2002. – V. 17. – P. 441-456.
- Mehrvar M., Abdi M. Recent developments, characteristics, and potential applications of electrochemical biosensors // *Anal. Sci.*, 2004. – V. 20. – P. 1113-1126.
- Shi H., Song Z., Huang J. et al. Effects of the type of polycation on the amperometric response of choline biosensors prepared by a layer-by-layer deposition technique // *Mater. Sci. Eng. C*, 2005. – V. 25. – P. 433-435.
- Qin X., Wang H., Wang X. et al. Amperometric choline biosensors based on multi-wall carbon nanotubes and layer-by-layer assembly of multilayer films composed of poly(diallyldimethylammonium chloride) and choline oxidase // *Mater. Sci. Eng. C*, 2009. – V. 29. – P. 1453-1457.
- Shi H., Yang Y., Huang J. et al. Amperometric choline biosensors prepared by layer-by-layer deposition of choline oxidase on the Prussian blue-modified platinum electrode // *Talanta*, 2006. – V. 70. – P. 852-858.
- Gromova M.S., Sigolaeva L.V., Fastovets M.A. et al. Improved adsorption of choline oxidase on a polyelectrolyte LBL film in the presence of iodide anion // *Soft Matter*, 2011. – V. 7. – P. 7404-7409.
- Tudorache M., Bala C. Biosensors based on screen-printing technology, and their applications in environmental and food analysis // *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007. – V. 388. – P. 565-578.
- Донцова Е. А., Будашов И. А., Еременко А. В. и др. Пероксид-чувствительный амперометрический сенсор на основе наночастиц диоксида марганца // *Российские нанотехнологии*, 2008. – Т. 3. – №7-8. – С. 133-143.
- Jennings N. A., Pezzementi L., Lawrence A. L. et al. Acetylcholinesterase in the sea urchin *Lytechinus variegatus*: characterization and developmental expression in larvae // *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2008. – V. 149. – P. 401-409.
- Liu J., Zhang H.Y., Tang X.C. et al. Effects of synthetic (-)-huperzine A on cholinesterase activities and mouse water maze performance // *Zhongguo Yao Li Xue Bao*, 1998. – V.19. – P.413-416.

Gromova M.S., Krainova N.A., Torgonskaya A.A., Sigolayeva L.V., Rudakova Ye.V., Makhaeva G.F., Yeryomenko A.V., Kurochkin I.N.

Determination of blood cholinesterases using a highly sensitive amperometric biosensors based on enzyme- polyelectrolyte nanofilms

Department of Chemistry, Moscow State University

A planar amperometric choline oxidase biosensor was developed for a highly sensitive determination of choline and cholinesterases activity. Levels of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) activities were measured using the choline oxidase biosensor in experiments on the AChE/BChE selective inhibition *in vitro* in mice blood samples as well as in experiments on AChE and BChE dose-dependent inhibition *in vivo* after mice were exposed to a model organophosphorous inhibitor. Biosensor measurements were validated by spectrophotometric methods.

Материал поступил в редакцию 28.10.2011 года

УДК 612.014.2: 615.9

Площадь ядра ФГА-стимулированного лимфоцита как характеристика его объема. Физический смысл измерения площади клеточного ядра в методах количественной микроскопии.

Мошков Н.Е.

ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» Минздрав России, г. Москва

Статья посвящена описанию физического смысла понятия «площадь ядра» в количественной микроскопии и изучению взаимосвязи площадей ядер клеток с их объемами. Исследования проведены на препаратах ФГА-стимулированных лимфоцитов крови человека, подготовленных для анализа в микроядерном тесте. Показано, что изображение клеточного ядра является проекцией ядра на плоскость предметного стекла в направлении оптической оси микроскопа. Проведена оценка взаимосвязи объема клеточного ядра с его площадью, измеренной по микрофотографии, в результате получена прямая степенная зависимость с показателем степени $3/2$.

Введение. Количественная микроскопия является перспективным методом биологических исследований, который позволяет дополнить стандартные диагностические схемы объективными количественными критериями. Количественный анализ изображений, использующий современные математические методы, способен значительно расширить понимание сути патологических процессов и особенностей их проявления. Поэтому в современных исследованиях [1-6] достаточно широко распространена морфометрия клеток и клеточных ядер, в ходе которой анализируются изменения таких показателей, как площадь, периметр, коэффициент формы и т.д. Важно, что во всех доступных источниках в качестве основного морфометрического параметра для оценки размеров клеток и их ядер используются значения площадей. При этом, однако, в литературе не удалось обнаружить сведений о характере связи между площадью клеточного ядра и его объемом, что, строго говоря, ставит под сомнение правомерность оценки размеров ядра на основе данных о его площади. Кроме того, само понятие «площадь клеточного ядра» часто используется без понимания физической сути, поскольку в действительности ядро является трехмерным объектом, корректными характеристиками которого в общем случае могут быть, например, параметры сечений, объем и площадь поверхности, либо её математическое описание.

Настоящая работа посвящена анализу понятия «площадь ядра» в количественной микроскопии, а также оценке связи площадей ядер ФГА-стимулированных лимфоцитов крови человека с их объемом.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили в лаборатории генетического мониторинга ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина» Минздрава России в рамках изучения генотоксической активности ряда веществ на препаратах лимфоцитов крови человека, культивированных в условиях цитокINETического блока и подготовленных для анализа в микроядерном тесте [7, 8].

Для подготовки препаратов 200 мкл гепаринизированной цельной венозной крови человека культивировали в 3.8 мл среды F-10, содержащей 15% сыворотки крупного рогатого скота и 7 мкг/мл ФГА. На 44 часу добавляли цитохалазин В [7], через 28 часов лимфоциты крови стандартно фиксировали в смеси метанол – уксусная кислота (3:1). Препараты готовили нанесением нескольких капель суспензии зафиксированных клеток на сухие охлажденные предметные стекла и окрашивали азур-эозинном по методу Романовского-Гимза [9]. Донорами служили практически здоровые некурящие молодые мужчины.

Для получения изображений клеток использовали оптический световой микроскоп со встроенной цифровой камерой. Для анализа выбирали двуядерные лимфоциты без видимых повреждений с отдельно лежащими ядрами. При увеличении 10x40 такие клетки фотографировали (1024x768 pix, 96 dpi). Всего были получены изображения 4100 клеток, из которых затем были случай-

Ключевые слова: количественная микроскопия, площадь ядра, объем ядра, морфометрия, лимфоциты

ным образом извлечены и подвергнуты анализу снимки 100 ядер. Измерение площадей ядер лимфоцитов по полученным снимкам проводили в модуле Image analysis программы ADOBE Photoshop CS3 Extended. Для этого использовали 2 метода:

- автоматизированное оконтуривание ядра инструментами Quick selection и Lasso и подсчет количества пикселей, ограниченных полученным контуром - прямой метод;
- измерение полуосей воображаемого эллипса, контур которого максимально близок к контуру ядра - косвенный метод.

Статистическую обработку результатов проводили в программе EasyFit 5.5 Professional.

Результаты и их обсуждение. Физически, наблюдаемые в оптический световой микроскоп двумерные изображения клеток, их ядер и других элементов являются проекциями реальных трехмерных объектов на плоскость предметного стекла в направлении оптической оси микроскопа (Рис. 1, Рис. 2). На Рис. 2 такой проекции соответствует вид сверху (С).

Визуальный анализ изображений 4100 клеток, полученных в ходе исследований, показал, что большинство таких проекций ядер имеют овальную форму, которую мы предложили аппроксимировать эллипсом. Для оценки ошибки такого описания из изображений 4100 ядер случайным образом извлекли изображения 100 ядер, и измерили их площадь прямым (автоматизированное оконтуривание ядра) и косвенным (измерение полуосей воображаемого эллипса) методами. Затем для каждого ядра вычислили относительную ошибку аппроксимации, принимая за истинное значение площадь, полученную прямым методом измерений. Результаты этого анализа показали, что с коэффициентом доверия 90% точность аппроксимации формы проекции ядра ФГА-стимулированного лимфоцита крови человека на плоскость предметного стекла эллипсом составляет не менее 9% (9.095 - 0.242 = 8.853 ≈ 9%, см. табл. 1).

Таблица 1

Результаты статистического анализа распределения относительной ошибки аппроксимации формы ядра ФГА-стимулированного лимфоцита эллипсом в контрольной выборке из 100 ядер лимфоцитов

Процентиль	Значение ошибки, %
Min	0,005
5%	0,242
10%	0,445
25% (1 квартиль)	1,408
50% (Медиана)	3,224
75% (3 квартиль)	5,112
90%	7,692
95%	9,095
Max	9,589



Рис. 1. Представление объема площадью в оптическом световом микроскопе

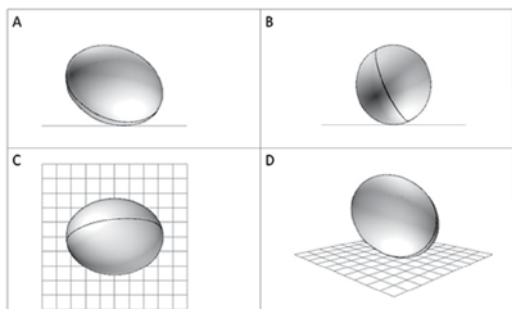


Рис. 2. Проекция трехмерного эллиптического объекта на предметные плоскости: А – вид спереди, В – вид слева, С – вид сверху, D – прямоугольная изометрическая проекция.

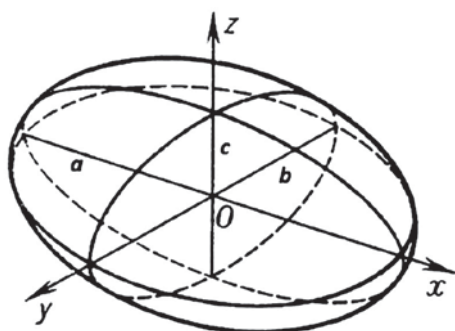


Рис. 3. Эллипсоид с полуосями a, b, c

То есть, можно предположить, что с определенной степенью точности форму ядер (аналогично форме их проекций) лимфоцитов допустимо аппроксимировать эллипсоидами. При этом если представить для простоты, что полуоси эллипсоида a и b (Рис. 3) параллельны плоскости предметного стекла, то проекция ядра на эту плоскость совпадает с его поперечным сечением и, таким образом, площадь ядра, измеряемая в методах количественной микроскопии, представляет собой площадь этого сечения. Основываясь на этом предположении, покажем связь площади ядра с его объемом, воспользовавшись следующими формулами:

Площадь эллипса:

$$S = \pi \times a \times b \tag{1}$$

где a и b – большая и малая полуоси эллипса (Рис. 3)

Объем эллипсоида:

$$V = (4/3) \times \pi \times a \times b \times c \tag{2}$$

где a, b, c – полуоси эллипсоида (Рис. 3)

Чтобы выразить объем эллипсоида через площадь его поперечного сечения, введем дополнительно следующие параметры:

$$\alpha = b/a, \quad \beta = b/c \tag{3}$$

Используя выражения (3) и подставляя выражение (1) в формулу (2) получим:

$$V = (4/3) \times \beta \times [\sqrt{(\alpha/\pi)}] \times S^{(3/2)} \tag{4}$$

Результаты оценки варибельности параметра α в контрольной выборке из 100 ядер показывают (табл. 2), что для 90% ядер отношение большой и малой полуоси эллипса находится в

Таблица 2

Результаты статистического анализа распределения параметра α в контрольной выборке из 100 ядер лимфоцитов

Процентиль	Значение параметра, ед.
Min	0,760
5%	0,858
10%	0,880
25% (1 квартиль)	0,914
50% (Медиана)	0,942
75% (3 квартиль)	0,970
90%	0,988
95%	0,995
Max	1,000

более глубокого и обоснованного понимания сути изучаемых процессов и микроскопических особенностей их проявления.

пределах от 0.858 до 0.995.

Такой результат можно представить иначе. Если принять значение параметра α равным константе и принять условно значение этой константы за 0.926, тогда в 90% случаев отклонение от этого значения будет не более ± 0.065 (7%), т.е. с коэффициентом доверия 90% точность утверждения $\alpha = 0.926 = const$ составит не менее 7%. Распространяя аналогичные рассуждения на параметр β , и учитывая соотношение (4), получим, что объем клеточного ядра ФГА-стимулированного лимфоцита прямо пропорционален площади ядра в степени 3/2:

$$(4/3) \times \beta \times \sqrt[3]{(\alpha/\pi)} = const; \quad V \sim S^{(3/2)} \quad (5)$$

Неточность этого утверждения может быть обусловлена тем, что в действительности:

- ядра не являются эллипсоидами, и отклонение формы проекции ядра от эллипса может составлять до 9% (коэффициент доверия 90%);
- параметры α и β также не являются константами и варьируют в пределах 7% от принятого значения (коэффициент доверия 90%);
- полуоси эллипсоида a и b могут не быть параллельными плоскости предметного стекла.

По нашим оценкам - с учетом положения 2 - точность утверждения (5) составляет порядка 11% с коэффициентом доверия не менее 90%. Учесть влияние компоненты 3 напрямую не представляется возможным, поскольку для этого требуется специализированные исследования пространственного расположения ядра внутри зафиксированной клетки, проведенные на цитогенетических препаратах. Однако если ориентация ядер изменяется от клетки к клетке незначительно, то непараллельность полуосей эллипсоида a и b плоскости предметного стекла можно компенсировать поправочным коэффициентом и принципиально соотношение (5) при этом не изменится. В то же время, при условии (5) площадь, периметр, а так же размеры полуосей воображаемого эллипсоида, аппроксимирующего ядро, константами не являются.

Косвенное подтверждение постоянства формы и ориентации ядер относительно предметного стекла содержится в ряде статей по количественной микроскопии: авторы работ [1, 2, 4-6] не обнаружили статистически значимых различий между опухолевыми и нормальными клетками по показателю коэффициента формы ядер (что указывает на отсутствие изменений формы ядра даже при опухолевой трансформации клетки). Этим данным соответствуют результаты, представленные в настоящей статье: если ядра клеток рассматривать как эллипсоиды, то постоянство (а строго говоря – изменение в малых пределах) отношения осей и ориентации ядер относительно предметного стекла, собственно, и означает постоянство их формы.

Принципиально в морфометрическом анализе могут быть предложены другие параметры – коэффициент формы, периметр, однако эти параметры мы не использовали сознательно из-за сомнительной точности измерений периметров ядер.

Заключение и выводы. Изображения ядер, наблюдаемые в оптический световой микроскоп, представляют собой плоские проекции реальных трехмерных ядер на плоскость предметного стекла. Как показали исследования контрольной выборки, если оценку проводить по значению площади, форма этих проекций с точностью не менее 9% может быть аппроксимирована эллипсом.

Несмотря на оценочный характер вычислений и значительное количество допущений, принятых в данной работе, результаты позволяют заключить, что по значениям площадей ядер лимфоцитов можно с определенной степенью точности оценить их объем. Между объемом и площадью ядер ФГА-стимулированных лимфоцитов вероятно наличие прямой степенной зависимости с показателем степени, равным 3/2. Использование этой зависимости в практических расчетах может быть полезно при выявлении либо уточнении корреляционных взаимосвязей. Полученные результаты позволяют утверждать, что измерение площадей клеточных ядер является физически и биологически обоснованным методом количественных исследований в микроскопии. Подробное изучение физического смысла величин, измеряемых в количественной микроскопии, представляется необходимым условием развития этого метода биологических исследований, поскольку позволяет добиться

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. He Yin-Cheng, Peng Wei, Qiao Jian-Guo [et al.] Relationship between nuclear morphometry, DNA content and resectability of pancreatic cancer [Journal] / World Journal of Gastroenterology. - 2003. - 9 : Vol. 8. - pp. 1863-1865.
2. Ozer E., Yorukoglu K., Sagol O. [et al.] Prognostic significance of nuclear morphometry in renal cell carcinoma [Journal] / BJU International. - 2002. - 90. - pp. 22-25.
3. Radwan Mamdouh M., Amer Kawther A., Mokhtar Nadia M. [et al.] Nuclear Morphometry in Ductal Breast Carcinoma with Correlation to Cell Proliferative Activity and Prognosis [Journal] / Journal of the Egyptian National Cancer Institute. - September 2003. - 3 : Vol. 15. - pp. 169-182.
4. Simeonov Radostin Nuclear morphometry in relation to tumor grade in canine spontaneous cutaneous squamous cell carcinomas [Journal] / Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. - 2009. - 33 : Vol. 5. - pp. 439-442.
5. Wolfe Pamela, Murphy James, McGinley John [et al.] Using Nuclear Morphometry to Discriminate the Tumorigenic Potential of Cells: A Comparison of Statistical Methods [Journal] / Cancer Epidemiology Biomarkers. - June 2004. - 13 : Vol. 6. - pp. 976-988.
6. Болгова Л. С., Алексеев О. И. и Туганова Т. Н. Цитологические и морфометрические особенности лимфоидных клеток вилочковой железы в норме и при лимфоидной тимоме

[Журнал] / Онкология. - 2002 г. - 4 : Т. 4. - стр. 252-255.

7. Fenech M. The in vitro micronuclei test technique [Journal] / Mut. Res., vol. 455. - 2000. - pp. 81-95.
8. Fenech M., Chang W.P. and Kirsch-Volders M. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures [Journal] / Mut. Res., vol. 534, №1. - 2003. - pp. 65-75.
9. Роскин Г. И. и Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника [Книга] / ред. Роскин Г. И. - Москва : Советская наука, 1957. - третье издание.
10. Zink D., Fischer A. H. and Nickerson J. A. Nuclear structure in cancer cells [Journal] / Nature reviews. - September 2004. - Vol. 4. - pp. 677-687.

Moshkov N.Ye.

Nucleus space in a PHA-stimulated lymphocyte as its volume characteristic. Physical meaning of measuring a cell nucleus space in quantitative microscopy methods

A.N.Sysin Research Institute for Human Ecology and Environmental Health, Moscow

The article describes a physical meaning of the concept «nucleus space» in quantitative microscopy and relationship between cell nucleus spaces and their volumes. Investigations were performed on preparations of PHA-stimulated human blood lymphocytes ready to be used in micronucleus tests. It was shown that the image of a cell nucleus is a projection of the nucleus on the slide glass along the microscope optical axis. The relationship between the cell nucleus volume and its space measured with the help of microphotography was evaluated and as a result, a direct power characteristic with exponent of 3/2 was obtained.

Материал поступил в редакцию 16.09.2011 года

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 597.2/5 : 615.91

Оценка токсичности разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 для стандартных тест-объектов: рыб - односуточных мальков гуппи (*Poecilia reticulata* Peters) и сеголетков карпа (*Cyprinus carpio* L. Для оценки токсического эффекта для рыб использовали показате-

Федотов А.С.

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП «ВНИРО»), г. Москва

проведена оценка токсичности разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 для стандартных тест-объектов: рыб - односуточных мальков гуппи (*Poecilia reticulata* Peters) и сеголетков карпа (*Cyprinus carpio* L. Для оценки токсического эффекта для рыб использовали показате-

ли медианных летальных концентраций ($ЛК_{50}$), характеризующие изменение выживаемости (гибель) рыб на 50% за определенное время – 96 часов ($ЛК_{50/96ч}$). По результатам оценки токсичности препаратов установлено: разжижители сырьевых шламов и интенсификаторы помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 относятся к малотоксичным веществам.

Ключевые слова: препараты, рыба, мальки, сеголетки, токсичность.

Введение. В настоящее время при производстве цемента применяются различные смесевые химические препараты. Эффективность использования данных препаратов зависит от вещественного состава сырьевого шлама и минерального состава клинкера. Тип интенсификатора подбирается непосредственно под минералогический состав клинкера, минеральных добавок. С учетом зависимости эффективности от вещественного состава сырьевого шлама и минералогического состава клинкера «Литопласт М» подразделяют на типы: «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5. По отпускной форме продукты в виде водных растворов.

Задачей данной работы служила оценка токсичности разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола: «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 для стандартных пресноводных тест-объектов: рыб – односуточных мальков гуппи (*Poecilia reticulata* Peters) и сеголетков карпа (*Cyprinus carpio* L.).

Материалы и методы исследования. Разжижители сырьевых шламов и интенсификаторы помола: «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 ТУ 5743-047-58042865-2010 представляют собой смесь нейтрализованных едким натром полимерных соединений с различной средней молекулярной массой и шириной молекулярно-массового распределения, получаемую при конденсации сульфокислот нафталина с формальдегидом – полиметиленафталинсульфонат натрия с добавлением компонентов, усиливающих эффект разжижения (интенсификации). Предназначены для разжижения шлама при производстве порландцементного клинкера, а также интенсификации помола клинкера при производстве цемента.

Жидкости коричневого цвета, допускается осадок. Водные растворы продуктов имеют характерный запах нафталинформальдегидного суперпластификатора. Массовая доля воды – 68%. Плотность при 20°C – 1,17 – 1,18 г/см³ [4].

Для оценки токсичности представленных образцов препаратов «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 использовали стандартных пресноводных тест-объекты: мальки рыб – односуточные организмы гуппи *Poecilia reticulata* Peters и сеголетки карпа – *Cyprinus carpio* L.

Исследование токсичности препаратов проводили в соответствии с «Руководством по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов» (утверждено МПР России, 27 апреля 2001г.), изд. РЭФИ, НИА-Природа, М., 2002г [3].

Определяли ЛК₅₀ препаратов «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 на рыбах за 4 суток (96 часов).

Мальки рыб – *Poecilia reticulata* Peters – гуппи, широко распространенная аквариумная живородящая рыба. В природе встречается как в пресной, так и в соленой воде, используются в экспериментах по оценке токсичности различных пресноводных и морских образцов проб, а также при определении предельно-допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ для водных объектов рыбохозяйственного значения (пресноводных и морских). В опыте используют высокочувствительных односуточных мальков данных рыб.

Исследование разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 проводили в аквариальной среде, с использованием рассеянного света и естественного светового периода. Длительность биотестирования составляла 4 суток (96 часов). Во время биотестирования рыб не кормили. Температура анализируемой пробы 20-22°C, концентрация растворенного кислорода 8,6 мг/дм³.

Соотношение воды и икhtiомассы составляло менее 1,5 г в литре, на каждую концентрацию приходилось по 10 экземпляров рыбок в опытах и контроле.

Физиологическую активность рыб проверяли по стандартному веществу – калию двуххромовокислороду. ЛК₅₀ К₂Cr₂O₇ за 24 ч составила 127,0 мг/дм³ (что укладывается в диапазон требуемых концентраций 106–175 мг/дм³).

Сеголетки рыб: для исследований подбирали некрупных одноразмерных рыб в хорошем физиологическом состоянии из водного объекта, благополучного в отношении инфекционных и инвазионных, а также массовых незаразных заболеваний.

Cyprinus carpio L. используются в экспериментах по оценке токсичности различных пресноводных образцов проб, а также при определении предельно-допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ для водных объектов рыбохозяйственного значения (пресноводных). В опыте используют сеголеток данных рыб.

Исследование разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола: «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 проводили в аквариальной среде, с использованием рассеянного света и естественного светового периода.

Длительность острых опытов составляла 4 суток (96 часов). Во время биотестирования рыб не кормили. Температура анализируемой пробы 18-20°C, концентрация растворенного кислорода 8,2 – 8,6 мг/дм³.

Соотношение воды и икhtiомассы составляло менее 3,0 г в литре, на каждую концентрацию приходилось по 5 экземпляров рыб в опытах и контроле.

Опыты на молоди рыб и сеголетках карпа проведены в 3-х кратной повторности. Каждому опыту соответствовал контроль. По окончании опытов методом пробит-анализа по В.Б. Прозоровскому [2] рассчитывали параметры токсичности – ЛК₅₀.

Все исследования проводили на фоне контроля (без внесения препаратов).

Степень острой токсичности разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 для рыб оценивали согласно классификации Лесникова Л.А. и Врочинского К.К. [1].

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования токсичности разжижителя сырьевых шламов и интенсификатора помола «Литопласт М» тип 3 на односуточных гуппи в остром опыте длительностью 96 часов представлены в табл. 1.

Данные таблицы 1 показывают, что в концентрациях 10,0 и 25,0 мг/л гибели односуточных мальков не отмечено на протяжении всей экспозиции опыта.

В концентрации 50,0 – 250,0 мг/л на 4 сутки отмечена статистически достоверная гибель мальков, соответственно 26,7; 66,7 и 83,3% по сравнению с контролем.

На 4 сутки в концентрациях препарата, равных 500,0 и 1000,0 мг/л наблюдается 100%-ная гибель односуточных мальков гуппи.

Расчетная полулетальная концентрация (ЛК₅₀ за 96 ч) разжижителя сырьевых шламов и интенсификатора помола «Литопласт М» тип 3 для мальков рыб равна 75,0 мг/л.

Результаты исследований по изучению динамики выживаемости односуточных гуппи в растворах с различными концентрациями разжижителя сырьевых шламов и интенсификатора помола «Литопласт М» тип 5 в остром опыте длительностью 96 часов представлены в табл. 2.

Представленные в таблице 2 данные показывают, что в концентрации 10,0 мг/л гибели односуточных мальков не отмечено на протяжении всей экспозиции опыта.

В концентрации 25,0 и 50,0 мг/л на 4 сутки отмечена гибель мальков, соответственно 23,3 и 46,7% по сравнению с контролем.

На 4 сутки в концентрациях препарата равных 100,0 – 1000,0 мг/л наблюдается 100%-ная гибель односуточных мальков гуппи.

Расчетная полулетальная концентрация (ЛК₅₀ за 96 ч) разжижителя сырьевых шламов и интенсификатора помола «Литопласт М» тип 5 для мальков рыб равна 53,5 мг/л.

Результаты исследования токсичности разжижителя сырьевых шламов и интенсификатора помола «Литопласт М» тип 3 на сеголетках карпа в остром опыте длительностью 96 часов представлены в табл. 3.

Данные таблицы 3 показывают, что в концентрациях 10,0 – 50,0 мг/л гибели сеголетков карпа не отмечено на протяжении всей экспозиции опыта.

В концентрации 100,0 – 500,0 мг/л на 4 сутки отмечена гибель рыб, составляющая 20,0; 46,7 и 66,7% соответственно по сравнению с контролем.

На 4 сутки в концентрации препарата равной 1000,0 мг/л наблюдается 100%-ная гибель сеголетков карпа.

Расчетная полулетальная концентрация (ЛК₅₀ за 96 ч) разжижителя сырьевых шламов и интенсификатора помола «Литопласт М» тип 3 для сеголетков карпа равна 234,5 мг/л.

Результаты исследования токсичности разжижителя сырьевых шламов и интенсификатора помола «Литопласт М» тип 5 на сеголетках карпа в остром опыте длительностью 96 часов представлены в табл. 4.

Данные таблицы 4 показывают, что в концентрациях 10,0 и 25,0 мг/л гибели сеголетков карпа не отмечено на протяжении всей экспозиции опыта.

В концентрациях 50,0 – 250,0 мг/л на 4 сутки отмечена гибель рыб, составляющая 13,3; 46,7 и 73,3% соответственно по сравнению с контролем.

На 4 сутки в концентрациях препарата равной 500,0 и 1000,0 мг/л наблюдается 100%-ная гибель сеголетков карпа.

Расчетная полулетальная концентрация (ЛК₅₀ за 96 ч) разжижителя сырьевых шламов и интенсификатора помола «Литопласт М» тип 5 для сеголетков карпа равна 107,1 мг/л.

При исследовании токсичности разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 результат оценивается по наиболее чувствительному тест-объекту, который характеризуется наименьшей токсичной концентрацией из всех полученных для различных тест-организмов (в данном случае – на разные стадии развития рыб: мальки и сеголетки).

Обобщение полученных результатов исследования разжижителей сырьевых шламов и интенсификаторов помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 по оценке их полулетальных концентраций (ЛК₅₀) для рыб – односуточных мальков группы и сеголетков карпа представлены в табл. 5.

Как видно из таблицы 5, для препаратов «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5 такими концентрациями являются 75,0 и 53,5 мг/л для мальков рыб, то есть препараты оказывают более токсичное действие на ранние стадии развития рыб.

Выводы. По классификации Л.А. Лесникова и К.К. Врочинского [3] по степени острой токсичности разжижители сырьевых шламов и интенсификаторы помола «Литопласт М» тип 3 и «Ли-

топласт М» тип 5 оцениваются как:

- «Литопласт М» тип 3 малотоксичный (ЛК₅₀ от 50,0 до 500,0 мг/л) для водных организмов (ЛК₅₀ для мальков рыб 75,0 мг/л);
- «Литопласт М» тип 5 малотоксичный (ЛК₅₀ от 50,0 до 500,0 мг/л) для водных организмов (ЛК₅₀ для мальков рыб 53,5 мг/л).

Таблица 1

Динамика выживаемости односуточных группы в растворах с различными концентрациями препарата «Литопласт М» тип 3 в остром опыте, 96 часов, n = 30

Концентрация, мг/л	Сутки опыта			
	1	2	3	4
	Выживаемость организмов, экз.			
Контроль	30	30	30	30
10,0	30	30	30	30
25,0	30	30	30	30
50,0	30	30	26	22
100,0	30	30	21	10
250,0	30	30	16	5
500,0	30	30	12	0
1000,0	30	24	8	0
% от контроля				
Контроль	100	100	100	100
10,0	100	100	100	100
25,0	100	100	100	100
50,0	100	100	86,7	73,3
100,0	100	100	70,0	33,3
250,0	100	100	53,3	16,7
500,0	100	100	40,0	0
1000,0	100	80,0	26,7	0

Таблица 2

Динамика выживаемости односуточных гуппи в растворах с различными концентрациями препарата «Литопласт М» тип 5 в остром опыте, 96 часов, n = 30

Концентрация, мг/л	Сутки опыта			
	1	2	3	4
	Выживаемость организмов, экз.			
Контроль	30	30	30	30
10,0	30	30	30	30
25,0	30	30	26	23
50,0	30	30	21	16
100,0	30	24	13	0
250,0	27	19	6	0
500,0	12	0	0	0
1000,0	3	0	0	0
% от контроля				
Контроль	100	100	100	100
10,0	100	100	100	100
25,0	100	100	86,7	76,7
50,0	100	100	70,0	53,3
100,0	100	80,0	43,3	0
250,0	90,0	63,3	20,0	0
500,0	40,0	0	0	0
1000,0	10,0	0	0	0

Таблица 3

Динамика выживаемости сеголетков карпа в растворах с различными концентрациями препарата «Литопласт М» тип 3 в остром опыте, 96 часов, n = 15

Концентрация, мг/л	Сутки опыта			
	1	2	3	4
	Выживаемость организмов, экз.			
Контроль	15	15	15	15
10,0	15	15	15	15
25,0	15	15	15	15
50,0	15	15	15	15
100,0	15	15	15	12
250,0	15	15	12	8
500,0	15	15	10	5
1000,0	15	15	7	0
% от контроля				
Контроль	100	100	100	100
10,0	100	100	100	100
25,0	100	100	100	100
50,0	100	100	100	100
100,0	100	100	100	80,0
250,0	100	100	80,0	53,3
500,0	100	100	66,7	33,3
1000,0	100	100	46,7	0

Динамика выживаемости сеголетков карпа в растворах с различными концентрациями препарата «Литопласт М» тип 5 в остром опыте, 96 часов, n = 15

Концентрация, мг/л	Сутки опыта			
	1	2	3	4
	Выживаемость организмов, экз.			
Контроль	15	15	15	15
10,0	15	15	15	15
25,0	15	15	15	15
50,0	15	15	15	13
100,0	15	15	12	8
250,0	15	12	9	4
500,0	12	8	3	0
1000,0	6	2	0	0
% от контроля				
Контроль	100	100	100	100
10,0	100	100	100	100
25,0	100	100	100	100
50,0	100	100	100	86,7
100,0	100	100	80,0	53,3
250,0	100	80,0	60,0	26,7
500,0	80,0	53,3	20,0	0
1000,0	40,0	13,3	0	0

Сводная таблица результатов исследования токсичности препаратов для рыб

Разжижитель сырьевых шламов и интенсификатор помола «ЛИТОПЛАСТ М» ТИП 3	Рыба		Слабое звено
	Односуточные мальки гуппи ЛК ₅₀ /96 ч, мг/л	Сеголетки карпа ЛК ₅₀ /96 ч, мг/л	
	75,0	234,5	Односуточные мальки гуппи (75,0 мг/л)
Разжижитель сырьевых шламов и интенсификатор помола «ЛИТОПЛАСТ М» ТИП 5	Рыба		Слабое звено
	Односуточные мальки гуппи ЛК ₅₀ (96 ч), мг/л	Сеголетки карпа ЛК ₅₀ (96 ч), мг/л	
	53,5	107,1	Односуточные мальки гуппи (53,5 мг/л)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания по рыбохозяйственной оценке пестицидов. ГосНИОРХ., Л., 1973.
2. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности/ Фармакология и токсикология. -М., 1962. - С. 68-79.
3. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. Утв. МПР России 27 апреля 2001г. Изд. РЭФИ, НИА-Природа, М., 2002 г.
4. Технические условия/ разжижители сырьевых шламов и интенсификаторы помола «Литопласт М» тип 3 и «Литопласт М» тип 5, ТУ 5743-047-58042865-2010// М., ОАО «ПОЛИПЛАСТ», 01 января 2010 г. - 10 с.

Fedotov A.S.

Toxicity evaluation of raw slurry liquetiers and grind intensifiers «Litoplast M», types 3 and 5 for fish

Russian Federal Research Institute of Fishery and Oceanography (VNIRO), Moscow

Toxicity evaluation of raw slurry liquetiers and grind intensifiers «Litoplast M», types 3 and 5 for fish was carried out for standard fish test-objects: one-day guppy juvenile (*Poecillia reticulata Peters*) and young-of-the-year carp (*Cyprinus carpio L*). To evaluate toxic effect to fish, the following indicators were used: median lethal concentrations (LC₅₀) characterizing 50%-fold changes in fish survival over a determined 96 h period (LC₅₀ 96h). According to the outcome of toxicity assessment of the preparations, it was set that raw slurries liquetiers and grind intensifiers «Litoplast M», types 3 and 5 refer to low toxic substances.

Материал поступил в редакцию 03.11.2011 г.

Изучали скорость резорбции свинца в желудочно-кишечном тракте птицы и аккумуляцию этого элемента ее морфологически и функционально различающимися органами и тканями. Минимальная летальная доза свинца, составляющая 1.5 мг/кг живой массы утки, влияет на уменьшение ее массы, восстанавливающейся после его резорбции в желудке. С динамикой массы тела сопряжено поглощение и выведение свинца из организма. Скорость этих процессов находится в прямой зависимости и существенно различается у разных органов и тканей. Особенно высокой скоростью поглощения и выведения свинца отличаются когти, почки, печень и перья, наименьшей – жир, сердце и мышцы. Интенсивное выведение из организма минимальной летальной дозы свинца начинается примерно через 2–2.5 месяца после освобождения от него желудочно-кишечного тракта птицы.

Введение. Свинец, как и другие тяжелые металлы, поступает в окружающую среду из природных источников (вулканическая деятельность, выветривание горных пород, эрозия почв и т.п.), а также в процессе антропогенной деятельности (добыча и переработка полезных ископаемых, сжигание топлива, применения минеральных удобрений и др.). Аккумулируясь в почве, растениях и животных, свинец представляет возрастающую угрозу для нормального функционирования природных и антропогенных экосистем. Удаление из почвы тяжелых металлов происходит медленно в ходе ее выщелачивания и эрозии, а также в результате извлечения растительностью. Период полужизни кадмия находится в пределах от 13 до 110, а свинца – от 740 до 5900 лет [1]. В растения свинец поступает из почвы, воды и атмосферы, а в организм человека и животных – с пищей, водой и пылью. Аккумуляция свинца в организме может поражать нервную систему, подавлять синтез белка, оказывать гонадотоксическое и эмбриотоксическое действие и др. [2].

Отравление птиц свинцом возможно при заглатывании ими свинцовой дроби, используемой охотниками для отстрела животных. В наиболее посещаемых охотниками угодьях в течение года может накапливаться до 10 кг/га свинца, что соответствует 5–11 дробинкам на 1 м². У водоплавающих птиц заглатываемая дробь, задерживаясь в желудке, вероятно, может заменять галлюку, выполняя функцию гастролитов [3]. Но наличие в пищеварительном тракте дроби нередко становится причиной отравлений свинцом [4-8].

В задачу настоящего исследования входило изучение токсичности свинца, попадающего в желудочно-кишечный тракт птиц и используемого ими в качестве гастролитов. Предпринята также попытка изучения интенсивности накопления и выведения свинца функционально и морфологически различающимися органами и тканями тела птиц, что важно для понимания физиологических механизмов, обуславливающих развитие свинцовых отравлений.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на обыкновенной кракве (*Anas platyrhynchos*), возраст которых на начало исследований находился в пределах 2–3-х месяцев до 1.3–2.4 лет. Уток постоянно содержали в вольерах размером 3.0-2.0-2.5 м, пол которых сочетал деревянный настил с речным песком. Птицы имели неограниченный доступ к воде и корму (комбикорму и пшенице крупного помола). Подопытным уткам однократно орально вводили по одной дробине массой 1.44±0.01 г (картечь). Перед этим и в последствии уток взвешивали. Наличие картечи в желудочно-кишечном тракте контролировали рентгеном и в процессе препарирования уток, проводившегося через неравные интервалы времени (в начале опыта чаще, в конце реже). Обнаруживаемые в желудке остатки картечи взвешивали с точностью до 0.5 мг.

Препарируемые части органов и тканей консервировали в этиловом спирте, а затем анализировали содержание в них свинца. Процесс подготовки проб к анализу заключался в их высушивании до постоянной массы и минерализации. Полную

Еськов Е.К., Еськова М.Д.,
Кириякулов В.М.

Российский государственный аграрный заочный университет, г. Балашиха

Ключевые слова: свинец, птица, резорбция, выведение, коэффициент биологического поглощения

минерализацию проб проводили в герметически закрытых реактивных камерах аналитического автоклава (МКП-04) смесью азотной кислоты и пероксида водорода в соответствии с МУК 4.1.985-00 и МИ 2221-92. Минерализаты переводили на требуемый объем деионизированной водой. Контрольный раствор (смесь азотной кислоты и пероксида водорода) помещали в реактивную камеру без анализируемой пробы.

Содержание свинца в минерализатах определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Для этого использовали спектрометр КВАНТ-Z.ЭТА («КОРТЭК»). В анализаторе этого типа перевод пробы в состояние атомного пара происходит в графитовой трубчатой электротермической печи, нагреваемой до температуры атомизации анализируемого элемента. В нее микропипеткой вводили пробы анализируемых веществ объемом 5 мкл. Значение массовой концентрации элемента в пробе вычисляли по градуировочной кривой, получаемой в процессе измерения нескольких калибровочных точек с ошибкой, не превышающей 8%. Управление прибором, обработка результатов анализа, отображение и хранение информации в спектрометре указанного типа производится персональным компьютером с программным обеспечением QUANT ZEEMAN 1.6.

Результаты и их обсуждение. Из 55 уток, в желудочно-кишечный тракт которых вводили картечь, погибло 5 уток. Их гибель происходила через 7, 51, 54, 73 и 86 суток. Картечь, находившаяся в желудках этих уток, полностью резорбировалась. Только у одной из этих уток, прожившей всего 7 суток, в желудке осталось 1.07 г свинца (0.37 израсходовано).

Гибели всех птиц предшествовало резкое уменьшение массы тела. У относительно молодых уток (до года), масса тела которых исходно составляла 0.71–0.86 кг, перед гибелью уменьшалась примерно в 1.5 раза, у относительно старых (более 2 лет) с исходной массой от 1.29 до 1.33 кг – почти вдвое. Уменьшение массы тела на 10–20% происходит также в течение первых 10–15 суток после заглатывания картечи у уток, сохраняющих жизнеспособность. В дальнейшем у них масса тела увеличилась, приближаясь к норме, у молодых через 4–5.5 мес. и примерно через 8 мес. у старых.

Рентгенографические обследования, проводимые на пятые сутки после заглатывания птицами картечи, регистрировали ее наличие в желудках. У уток, препарируемых на 17–20 сутки остатков картечи в желудках не обнаруживали. За это время она полностью истиралась и резорбировалась. Процессу истирания картечи и уменьшению размера нередко сопутствовало изменение ее формы из шарообразной в дискообразную.

Средняя скорость резорбции картечи в желудочно-кишечном тракте составляла 0.13 г/сут, варьируя в пределах от 0.08 до 0.21 г/сут. Неравномерность динамики резорбции картечи в желудках и аккумуляции свинца тканями и органами можно отнести за счет индивидуальной изменчивости уток по возрасту и физиологическому состоянию. Из числа факторов, влияющих на скорость резорбции свинца, с высокой вероятностью можно исключить изменения локомоторной активности, т.к. она

Динамика резорбции свинца (исходная масса 1.44 мг) в желудочно-кишечном тракте уток и элемента в разных органах и тканях

После заглатывания картечи, сут.	Количество свинца поглощено								
	в желуд-ке, г	тканями и органами тела (мг/кг)							
		желудок	печень	почки	мышцы	сердце	жир	перо	коготь
исходно	0.00	0.47± 0.05	0.89± 0.13	1.45± 0.27	0.22± 0.03	0.31± 0.04	0.17± 0.02	0.39± 0.17	0.31± 0.04
1 - 2	0.3± 0.05	10.8± 0.54	43.1± 2.41	105± 11.3	3.65± 0.12	2.52± 0.17	1.64± 0.21	12.4± 0.78	40.2± 13.3
3 - 4	0.5± 0.1	13.2± 0.96	48.8± 4.8	119± 23.6	3.23± 0.21	4.60± 0.27	1.62± 0.09	23.6± 5.74	83.0± 12.1
5 - 6	0.7± 0.1	11.9± 0.66	51.3± 14.2	128± 14.5	3.83± 0.32	5.15± 0.76	1.85± 0.23	24.4± 1.21	91.2± 17.9
7 - 8	0.9± 0.1	9.66± 0.91	79.9± 16.2	126± 15.3	3.16± 0.28	4.47± 0.88	2.76± 0.35	28.7± 1.64	124± 16.8
8 - 9	1.0± 0.05	9.41± 0.88	77.5± 14.9	127± 14.9	2.85± 0.23	5.12± 0.94	3.12± 0.41	30.5± 1.86	136± 18.2
10 - 16	1.3± 0.1	8.12± 1.11	82.3± 17.1	138± 17.2	2.68± 0.32	4.12± 0.91	3.49± 0.38	27.8± 1.59	141± 1.62
26 - 30	1.44	7.11± 0.56	35.9± 3.26	124± 3.38	2.74± 0.25	4.97± 0.16	1.63± 0.19	21.8± 0.08	118± 9.83
51 - 58	1.44	4.76± 0.22	26.9± 3.19	44.7± 15.3	3.08± 0.06	2.82± 0.06	1.14± 0.47	5.58± 0.07	42.1± 7.42
73 - 86	1.44	2.85± 0.13	7.43± 0.46	3.81± 0.04	1.73± 0.05	1.78± 0.05	0.42± 0.18	0.77± 0.05	3.31± 0.09

ограничивалась только передвижением по опорному субстрату в ограниченном пространстве.

Резорбируясь в желудочно-кишечном тракте, свинец неравномерно и с разной скоростью аккумулировался в органах и тканях (табл.). Наиболее интенсивно элемент поглощался в начале периода резорбции картечи (в первые 2 – 4 дня) после ее заглатывания утками. С наибольшей скоростью, составлявшей в первые двое суток 51.8±4.9 мг/сут., аккумуляция свинца происходила в печени. Со скоростью 19.9±3.4 мг/сут. в первые двое суток и 21.4±3.5 мг/сут. в последующий такой же период поглощали свинец котти. Медленнее со скоростью 6.0±0.9 и 5.2±0.7 мг/сут. поглощали в это же время свинец перья и желудок. Самой низкой скоростью поглощения свинца, составлявшей в течение первых двух суток 1.7±0.4, 1.1±0.2 и 0.7±0.1 мг/сут., отличались мышцы, сердце и жир. Соответственно этому различались коэффициенты биологического накопления (КПБ) разными органами и тканями. Исходя из того, что за время резорбции в желудочно-кишечном тракте картечины, утки потребляли 1.44 г свинца, можно рассчитать его КПБ. У коттей он находился на уровне 0.098, у почек – 0.096, у печени – 0.057, у перьев – 0.021, у желудочных тканей – 0.007, у сердца – 0.003 и у жира – 0.002.

За первые двое суток концентрация свинца в когтях, почках, печени, перьях, желудке, мышцах, жире и сердце выросла в среднем в 130, 72, 48, 32, 23, 17, 10 и 8 раз ($P > 0.999$) соответственно. В печени, жире и перьях высокий уровень концентрации свинца, варьируя в небольших пределах, поддерживался в течение 10 – 16 суток от заглатывания картечи, что соответствовало периоду полной ее резорбции в желудочно-кишечном тракте. В желудочных тканях, почках и когтях относительно высокое содержание элемента сохранялось до 26 – 30 сут., а в мышцах и сердце – до 51 – 58 сут.

Резкое уменьшение свинца во всех структурах происходило через 73 – 86 суток от момента заглатывания утками картечи. Но и к этому времени концентрация элемента не опускалась до исходного уровня (табл.). Наибольшим его превышением отличались котти, печень, мышцы, желудок и сердце. В них содер-

жание свинца превосходило исходные значения соответственно в 10.6, 8.3, 7.8, 6.1 и 5.7 раза ($P > 0.99$). Приближением содержания свинца к исходным уровням, превышавшим его всего в 2.6, 2.4 и 1.9 раза ($P > 0.95$), отличались почки, жир и перья.

Органы, обладавшие наибольшей интенсивностью поглощения свинца, быстрее других освобождались от него (табл.). Котти, аккумулируя свинец в 455 раз ($P > 0.999$) больше исходного уровня, освобождались от него со скоростью 2±0.31 мг/сут. В почках, печени и перьях, в которых максимальная концентрация свинца превышала его исходные значения в 95, 92 и 78 раза ($P > 0.999$), удаление элемента происходило со скоростью 1.9±0.26, 1.1±0.17 и 0.4±0.08 мг/сут. Относительно медленное освобождение от свинца со скоростью 0.07±0.014, 0.04±0.009, 0.03±0.007 и 0.01±0.003 мг/сут. происходило в желудке, жире, сердце и мышцах.

Выводы. 1. Потребление примерно 1.5 г свинца на 1 кг живой массы тела уток обладает минимальной летальной эффективностью (LD_{10}). Внешне проявляющийся ответ на такую дозу токсиканта выражается в уменьшении массы тела, что происходит в течение того времени пока свинец резорбируется в желудочно-кишечном тракте.

2. Свинец, резорбируясь в желудочно-кишечном тракте, быстро распространяется по всему телу. Особенно высокой интенсивностью аккумуляции элемента отличаются котти, почки и печень. Интенсивное выведение свинца из организма начинается примерно через 2 – 2.5 месяца после освобождения от него желудочно-кишечного тракта, чему сопутствует восстановление нормального уровня массы тела.

3. Свинец, оказавшийся в желудочно-кишечном тракте неравномерно и с разной скоростью аккумулируется в организме птицы. Со скоростью поглощения элемента в том или ином органе прямо коррелирует интенсивность его выведения. Оно начинается после завершения резорбции свинцовой массы, локализуемой в желудке. По скорости накопления и выведения свинца наибольшей мобильностью отличаются котти, почки, печень и перья, наименьшей – жир, сердце и мышцы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. – М.: Мир. 2003. 171 с.
2. Эйхлер В. Яды в нашей пище. – М.: Мир. 1985. - 202 с.
3. Лебедева Н.В., Сорокина Т.В. Тяжелые металлы в водоплавающих и околоводных птицах Азовского моря // Пищевые ресурсы дикой природы и экологическая безопасность населения. Мат. Межд. конф. (16 – 18 ноября 2004 г. Россия, г Киров). Киров. 2004. – С. 137 – 139.
4. Еськов Е.К. Кирьякулов В.М. Биологические эффекты аккумуляции поллютантов и эссенциальных элементов водно-болотными экосистемами// Вестник охотоведения. 2009. Т. 6. № 1. – С. 3 – 20.
5. Еськов Е.К., Кирьякулов В.М. Содержание тяжелых металлов в теле уток, оседло зимующих в Московской области// Сельскохозяйственная биология. Биология животных. 2008. № 6. – С. 115 – 118.
6. Beer J.V., Stanley P. Lead poisoning in the Slimbridge wildfowl population // Wildfowl Trust Ann. Rep. 1965. V. 16. – P. 30 – 34.
7. Thomas G.J. Ingested lead pellets in poisoning in waterfowl at the Ouse washes, England 1968 – 1973 // Wildfowl. 1975. V. 26. – P. 43 – 48.
8. Mudge G.P. The incidence and significance of ingested lead pellet poisoning in Britain wildfowl // Biol. Conserv. 1983. V. 27. – P. 333 – 372.
9. Scheuhammer A.M. Reproductive effects of chronic, low-level dietary metal exposure in birds// 52-th North Amer. wildlife and natural resources conf. Quebec City, Quebec/ March 20 – 25, 1987. – P. 568 – 664.

Yeskov Ye.K., Yeskova D.M., Kiryakulov V.M.

Dynamics of accumulation and elimination of lead from the birds organism

Russian State Agrarian Correspondence University, Balashikha, Moscow region

The subject of the study was the lead absorption speed in the birds gastro-intestinal tract and accumulation of this element in birds organs and tissues with different morphological and functional characteristics. A minimal lead dose of 1.5 mg/kg duck live weight decreases its weight that recovers after its absorption in the stomach. The lead absorption and elimination from the organism couple with the dynamics in the body mass. The speed of these processes is directly interdependent and significantly differs in different organs and tissues. A notably high accumulation and elimination speed is observed in claws, kidneys, liver, feathers and the least in fat, heart and muscles. An intensive removal of the lead minimal lethal dose from the body begins about 2 or 2.5 months after its elimination from the bird gastrointestinal tract.

Материал поступил 22.06.2011 г.

УДК 574. 632.12:574.581

*О воздействии детергентов на Vigna radiata и Lens culinaris в условиях биотеста*Поклонов В.А., Котелевцев С.В.,
Остроумов С.А.МГУ им. М.В. Ломоносова,
г. Москва

Всточных водах концентрации синтетических поверхностно – активных веществ (СПАВ) могут превышать 30 г/л. Изучали воздействие синтетических моющих средств (СМС), которые содержат СПАВ, на проростки растений маш (*Vigna radiata*) и чечевицу (*Lens culinaris*) в условиях биотеста. При концентрации СМС Losk Automat Intensive, Dosia Color и Пемолукс 0,5 г/л растения отставали в росте и развитии во время инкубации. При концентрации 5 г/л растения погибали.

Ключевые слова: детергент, синтетические моющие*средства (СМС), синтетические поверхностно – активные вещества (СПАВ), проростки растений, фитотоксичность.*

Введение. Загрязнение окружающей среды синтетическими химическими веществами приобрело в современном мире крупные масштабы. Поэтому необходимо изучение воздействия загрязняющих веществ на растения, в том числе имеющие значение как сельскохозяйственные растения.

Среди важнейших загрязняющих веществ с полным основанием рассматривают тяжелые металлы, пестициды, нефтепродукты, хлорорганические соединения и ряд других веществ, которые являются приоритетными при экологическом и гидробиологическом мониторинге. Однако синтетические поверхностно – активные вещества (СПАВ, ПАВ) зачастую не включаются в число наиболее приоритетных загрязнителей и их роль в загрязнении окружающей среды была изучена недостаточно. ПАВ относят к загрязняющим веществам 4 – го класса опасности (умеренно опасные) [2, 4, 5, 6].

Экологическое значение некоторых ПАВ, как загрязнителей среды увеличивается тем фактом, что они медленнее разрушаются в окружающей среде, чем многие другие ксенобитики [1]. В опытах с дафниями *Daphnia magna* токсичность нефтяного загрязнения возрастала в 200 при добавлении в систему ПАВ – содержащих дисперсантов [8].

АПАВ (анионогенные поверхностно – активные вещества) составляют львиную долю из тех СПАВ, которые ежедневно поступают в сточные воды. АПАВ преобладают в спектре производных и применяемых СПАВ. Ежегодный прирост их использования составил около 2 – 3% [2]. Именно эти виды ПАВ содержатся в синтетических моющих средствах (СМС).

Целью работы было изучить воздействие СМС (Losk Automat Intensive, Dosia Color, Пемолукс), на растения маш

Vigna radiata (L.) Wilczek и чечевицу *Lens culinaris* Mill. Эти виды ранее не использовались для биотестирования.

Материалы и методы исследования. Тестированию подвергали три вещества – (синтетические моющие средства: Losk Automat Intensive, Dosia Color, Пемолукс). Информация о них дана в табл. 1.

Для приготовления растворов СМС использовали отстоянную в течение недели водопроводную воду. Порошки СМС растворяли в исходной концентрации 5 г/л. Методом последовательных разбавлений были получены растворы в концентрациях 0,5 г/л и 0,05 г/л. Тестируемые растворы содержали следующие концентрации СМС: 0 г/л контроль; 0,05 г/л; 0,5 г/л; 5 г/л.

В качестве организмов для биотеста использовали маш *Vigna radiata* (L.) Wilczek и чечевицу *Lens culinaris* Mill.

При проведении биотестирования каждую из концентраций тестировали в двух стеклянных чашках Петри (диаметром 115 мм). Опыты повторяли 3 раза, в каждом опыте – по 8 чашек соответственно (по 2 чашки Петри для каждой концентрации тестируемого вещества). В каждой чашке находилось по 15 семян *Vigna radiata* или *Lens culinaris*. В каждую чашку вносили по 25 мл тестируемых растворов.

Наблюдения совершали на 5 сутки.

Инкубация чашек происходила при температуре $15 \pm 1,5^\circ\text{C}$. Был выбран метод определения фитотоксичности на основе измерения и расчета условной средней длины проростков [3]. Степень ингибирования проростков рассчитывалась по формуле (1) [3]:

Степень ингибирования =

$$\left(1 - \frac{L_{\text{опыт}}}{L_{\text{конт}}}\right) \cdot 100\% \quad (1)$$

где $L_{\text{опыт}}$ – длина проростков в тестируемом растворе детергентов (СМС) и $L_{\text{конт}}$ – длина проростков в отстоянной водопроводной воде без добавления СМС (контроль).

Результаты и их обсуждение.

Результаты опытов по оценке токсичности использованных в данной работе растворов СМС с помощью тест – организмов двух видов, – которыми служили маш (*Vigna radiata*) и чечевица (*Lens culinaris*), – содержатся в таблице 2 и таблице 3.

Концентрации синтетических моющих средств, созданные в чашках Петри в начале инкубации, были гораздо меньше, чем в некоторых видах сточных вод, где концентрации СПАВ могут достигать 30 г/л. Отметим, что имеются нормативы для максимального содержания СПАВ в водах, поступающих на очистные сооружения, которое должно быть не более 20 – 50 мг/л [7].

В опытах на *V. radiata* получены следующие результаты (табл. 2)

При тестировании с детергентом Losk Automat Intensive в концентрации 0,05 г/л обнаружено ингибирование проростков на 25,6%. При концентрации 0,5 г/л выявлено более значительное ингибирование на 46,1%. В концентрации 5 г/л почти все проростки погибли, ингибирование 98%.

Действие других СМС, Dosia Color и Пемолюкс, также зависело от концентраций. Детергент Dosia Color в концентрации 0,05 г/л ингибировал на 25,2%. При концентрации 0,5 г/л удлинение проростков снижалось на 55,5%. При концентрации 5 г/л почти все проростки погибли, ингибирование 98,9%. Таким образом, в действии двух детергентов – Losk Automat Intensive и Dosia Color – отмечается сходство.

Детергент Пемолюкс при концентрации 0,05 г/л слабо стимулировал проростки (длина проростков была больше, чем в контроле). При концентрации 0,5 г/л Пемолюкса проявились признаки неблагоприятия, ингибирование 50,2%. В концентрации 5 г/л Пемолюкс проявил значительную токсичность (77,7%).

В экспериментах на другом растении, *L. culinaris*, также выявлено ингибирование проростков, как описано ниже (см. таблицу 3).

Детергент Losk Automat Intensive в концентрации 0,05 г/л ингибировал удлинение проростков чечевицы на 19,7%. Проростки *L. culinaris* не смогли выжить при концентрациях этого СМС 0,5 и 5 г/л, ингибирование оказалось 100%.

Детергент Dosia Color в концентрации 0,05 г/л стимулировал проростки *L. culinaris* на 13,4%. В концентрациях 0,5 и 5 г/л произошло ингибирование проростков на 99% и 99,7%, соответственно.

При сравнении с воздействием этих детергентов на другой вид растения (маш) видно, что на чечевицу промежуточная концентрация этих СМС (0,5 г/л) действовала сильнее.

Пемолюкс в концентрации 0,05 г/л ингибировал проростки *L. culinaris* на 31%, а в концентрации 0,5 г/л 42,9%. В концентрации 5 г/л произошло сильное ингибирование *L. culinaris* (99,2%).

Сопоставление результатов биотестирования на двух видах растений показывает следующее.

При концентрации 5 г/л все тестируемые СМС показали высокую токсичность для обоих видов *L. culinaris*. Семена *L. culinaris* не проросли в растворах тестируемых детергентов (Losk Automat Intensive, Dosia Color, Пемолюкс), либо образовались очень маленькие проростки (от 1 до 2 мм).

При концентрации 0,5 г/л Losk Automat Intensive, Dosia Color, Пемолюкс заметны следующие различия в реагировании двух видов растений. А именно, чечевица вообще не перенесла загрязнение Losk Automat Intensive и Dosia Color. Пемолюкс при концентрации 0,5 г/л ингибировал проростки чечевицы на 42,9%. Маш был подавлен на 46,1-55,5%, в зависимости от вида СМС. Следовательно, при этой концентрации (0,5 г/л) маш был более устойчив, чем чечевица, к двум СМС – Losk Automat Intensive и Dosia Color.

При концентрации 0,05 г/л воздействие детергентов было минимальным. Однако, негативное воздействие в некоторых случаях проявилось (Losk Automat Intensive) при воздействии и на *V. radiata*, и на *L. culinaris*. Препарат Dosia Color при воздействии на *V. radiata* вызвал ингибирование на 25,2%, а при действии на *L. culinaris* в этой концентрации не вызывал ингибирования.

Для *V. radiata* при низкой концентрации СМС (0,05 г/л) из трех препаратов СМС более токсичными были Losk Automat

Intensive и Dosia Color. При промежуточной концентрации 0,5 г/л все три препарата проявили приблизительно одинаковую фитотоксичность (ингибирование 46 – 56%). При высокой концентрации 5 г/л наиболее токсичными были опять Losk Automat Intensive и Dosia Color.

Для *L. culinaris* из препаратов СМС при низкой концентрации 0,05 г/л наиболее фитотоксичным был Пемолюкс, наименее Dosia Color. При средней концентрации 0,5 г/л наиболее токсичными были два препарата Losk Automat Intensive и Dosia Color. При высокой концентрации 5 г/л все три препарата проявили высокую фитотоксичность (ингибирование более 99%).

Отметим, что при тестировании всех трех СМС на обоих видах выявляются общие закономерности:

Повышение концентрации СМС влечет снижение средней длины проростков.

Повышение концентраций СМС вызывает увеличение коэффициента вариации условной средней длины (что видно в таблицах 2 и 3).

Растения маш и чечевица проявляли неодинаковую чувствительность к воздействию синтетических моющих средств. Маш был более устойчивым к воздействию СМС.

Выводы. Все три детергента проявили способность подавлять проростки обоих видов растений. Наблюдалось снижение роста и гибель растений, в зависимости от концентраций. *Vigna radiata* обладал относительно более высокой устойчивостью к воздействию СМС, чем *Lens culinaris*. Было выяснено, что чечевица чувствительна к сравнительно небольшим концентрациям СМС. Это делает ее относительно высокочувствительным тест – объектом. Следовательно, чечевица *L. culinaris* является перспективной и в других биотестах для исследования фитотоксичности поллютантов при изучении экологической опасности химических веществ.

В целом результаты проведенных опытов согласуются с предположением, что СМС, попадая в среду обитания, могут быть опасны для сельскохозяйственных растений *V. radiata* и *L. culinaris*.

Этот вывод согласуется с данными работ [2-4], где был сделан аналогичный вывод для других видов сельскохозяйственных растений.

Аналогичные исследования были проведены нами еще на нескольких ксенобиотиках (смеси тяжелых металлов, додецилсульфат натрия, аминоантрацен, детергенты: E Color, Persil Color, Fairy и др.). Результаты будут изложены в последующих публикациях.

Полученные экспериментальные данные дополняют информацию о широком круге эффектов, характеризующих биологическую активность водных сред, содержащих ПАВ и СМС [2-8].

Таблица 1

Данные об использованных детергентах (смесевых препаратах).

Название	Фирма – производитель	Адрес производителя	Состав и внешний вид	ГОСТ или ТУ (технические условия)
1. Losk Atomat Intensive	ООО «Интерфил» для ОАО «Хенкель – Эра».	Россия, г. Тосно Ленинградской области, Московское шоссе 1.	<5% НПРАВ, фосфонаты, поликарбонаты, 5-15% АПАВ, кислородсодержащий отбеливатель энзимы, оптический отбеливатель, отдушка. Крупный белый порошок с цветными гранулами.	ГОСТ АЮ 64 (х), АЯ 85 (у), ХП 15 (z)
2. Dosia Color	Филиал ООО «Рекитт Бенкизер».	Россия, Московская область, г. Клин 141600, ул. Терешковой, 1.	5-15% цеолиты, <5% НПРАВ и АПАВ, энзимы, анти-вспениватель отдушка. Крупный голубой порошок с цветными гранулами.	ГОСТ АЕ 28
3. Пемолокс Сода 3 Эффект	Филиал ООО «Хенкель РУС»,	Россия, г. Пермь 614113, ул. Ласьвинская, 88.	Карбонат кальция, сода, АПАВ, краситель, отдушка. Мелкий голубой порошок.	ТУ: 2383-022-89589540-2009

Таблица 2

Воздействие синтетических моющих средств (СМС) содержащих поверхностно – активные вещества на длину проростков (*Vigna radiata*), мм.

Вещество	Длительность инкубации, часы	Концентрация, г/л	Среднее арифметическое	Среднее квадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %	n	Степень ингибирования, %
Losk Automat Intensive	119	0	24,3	13,8	56,7	66	0
		0,05	18,1	12,9	71,2	66	25,6
		0,5	13,1	7,4	56,4	66	46,1
		5	0,5	1,3	260,0	66	98,0
Dosia Color	120	0	25,8	12,4	48,1	66	0
		0,05	19,3	11,6	60,1	66	25,2
		0,5	11,5	7,3	63,4	66	55,5
		5	0,3	0,8	266,6	66	98,9
Пемолок	120	0	25,1	13,1	52,1	66	0
		0,05	26,2	12,5	47,7	66	-4,3
		0,5	12,5	7,8	62,4	66	50,2
		5	5,6	4,9	87,5	66	77,7

n – суммарное число семян, использованных в опытах для данной концентрации

Таблица 3

Воздействие синтетических моющих средств содержащих поверхностно – активные вещества на длину проростков (*Lens culinaris*), мм.

Вещество	Длительность инкубации, часы	Концентрация, г/л	Среднее арифметическое	Среднее квадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %	n	Степень ингибирования, %
Losk Automat Intensive	117	0	33,6	28,1	83,6	66	0
		0,05	27	23,7	87,7	66	19,7
		0,5	0	0	0	66	100
		5	0	0	0	66	100
Dosia Color	124	0	29,1	32,9	113,1	66	0
		0,05	33,0	41,4	125,4	66	-13,4
		0,5	0,3	1,1	366,6	66	99,0
		5	0,1	0,7	700,0	66	99,7
Пемолок	117	0	35,9	33,1	92,2	66	0
		0,05	24,8	31,9	128,6	66	31,0
		0,5	20,5	28,6	139,5	66	42,9
		5	0,3	1,1	366,6	66	99,2

n – суммарное число семян, использованных в опытах для данной концентрации

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каплин А. Я. Современное состояние и главные направления в изучении процессов трансформации химических веществ в природных водах // Материалы 6-ого всесоюзного симпозиума по современным проблемам самоочищения водоемов и регулирования качества воды. Секция 2. – Таллин. 1979. – Ч. 1. – С. 3 – 17.
2. Остроумов С.А. Биологические эффекты поверхностно-активных веществ в связи с антропогенными воздействиями на биосферу. М.: МАКС Пресс, 2000. – 116 с.
3. Остроумов С.А. Биологические эффекты при воздействии поверхностно-активных веществ на организмы. – М.: МАКС Пресс, 2001. – 334 с.
4. Остроумов С.А. Тритон X100 [ингибирование *Lepidium sativum*] // Токсикологический вестник, 1999. – № 4 – С. 41.
5. Остроумов С.А., Колотилова Н.Н. Цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ, гексадецилтриметиламмоний бромид) // Токсикологический вестник, 1998. – № 5. – С. 30.
6. Остроумов С.А., Краевский В.М., Лямин М.Я. Тетрадецилтриметиламмоний бромид

(ТДТМА) // Токсикологический вестник, 1999. – №1. – С.35 – 36.

7. Ставская С. С., Улод В. М., Таранова Л. А., Кривец И. А. Микробиологическая очистка воды от поверхностно – активных веществ. – Киев: Наукова Думка, 1988. – 184 с.

8. Bobra A., Shiu W., Mackay D., Goodman R. 1989. Acute toxicity of dispersed fresh and weathered crude oil and dispersants to *Daphnia magna* // Chemosphere. – 1989. – V.19. – № 8/9. – P. 1199 – 1222.

Poklonov V.A., Kotelevtsev S.V., Ostroumov S.A.

Exposure of *Vigna radiata* and *Lens culinaris* to detergents in biotests

M.V. Lomonosov Moscow State University

Concentrations of synthetic surfactants in waste water can exceed 30g/l. The impact of synthetic detergents containing synthetic surfactants on sprouts of golden gram (*Vigna radiata*) and lentil (*Lens culinaris*) was studied in biotests. Plants delayed in growth and development during the incubation period when the concentration of detergents Losk Automat Intensive, Dosia Color and Pemolux was of 0.5 g/l. Plants perished at a concentration of 5 g/l.

Материал поступил в редакцию 26.08.2011 г.

ХИМИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

«Зеленая» химия – эффективный инструмент снижения риска воздействия химических веществ на здоровье человека и окружающую среду

Сегодня, несмотря на большой ресурсный потенциал, Россия сталкивается с серьезными вызовами в области состояния здоровья человека и окружающей среды. Примерами таких вызовов являются: низкая средняя продолжительность жизни населения, увеличение заболеваемости, рождение больных детей, загрязнение окружающей среды, утрата биоразнообразия и климатические изменения. Одной из основных причин возникновения перечисленных выше проблем является возрастающее химическое загрязнение страны, обусловленное, в первую очередь, неуклонным ростом объемов потребления и производства химических веществ.

Осознание важности и масштабов возникающих проблем явилось причиной декларирования на самом высоком уровне перехода страны к новым, «зеленым» подходам управления. Необходимость «зеленой» экономики, как одного из инструментов устойчивого развития и рационального природопользования была отмечена Председателем Правительства Российской Федерации Д.А.Медведевым в его выступлении на третьей сессии пленарного заседания Конференции ООН по устойчивому развитию «Рио+20». В Хабаровске на заседании министров АТЭС (Азиатско-Тихоокеанское экономическое сотрудничество) по вопросам охраны окружающей среды Российской министр природных ресурсов и экологии С.Е. Донской заявил, что сегодня Россия предпринимает шаги по пути экологизации экономики и переходу к «зеленому» росту, которые предполагает бережное отношение к природе и рациональное использование ресурсов.

В области связанной с безопасным обращением химических веществ, одним из наиболее эффективных инструментов управления может стать «зеленая» химия. При этом необходимо отметить, что «зеленая» химия является неотъемлемой частью и «зеленой» экономики и «зеленого» роста, что обусловлено тем, что, с одной стороны, химические вещества и химические процессы лежат в основе развития и функционирования современного общества: именно благодаря им мы получаем пищу, одежду, дома, энергию, предметы обихода и другие блага цивилизации. С другой стороны, те же химические вещества и химические процессы являются источником большей части хронических заболеваний, аллергии, онкологических заболеваний, рождения неполноценных детей и преждевременной смертности, деградации водоемов и почв, гибели растений и животных. Для нашей страны важность перехода к «зеленой» химии определяется еще и особым географическим положением. Огромные территории расположены в зоне вечной мерзлоты, большие металлургические и нефтехимические предприятия находятся за полярным кругом. Воздействие на окружающую среду в таких условиях особенно сильно, поскольку большинство загрязняющих веществ и отходов плохо разлагаются при низких температурах.

Экономическая важность развития «зеленой» химии в стране, обусловлена вступлением России в ВТО и последующим вступлением в ОЭСР, требующих от российских предприятий, для обеспечения конкурентоспособности продукции в новых экономических условиях, соответствия мировым стандартам и

принципам, в которых одними из основных являются вопросы здоровья человека, охраны окружающей среды, энерго- и ресурсосбережения.

Еще в 1998 году страны-члены ОЭСР, озабоченные возникающими в их странах экологическими проблемами и рисками, связанными с увеличивающимся количеством находящихся в обращении химических веществ, одобрили новую инициативу названную «Устойчивая (или зеленая) химия». Основной целью инициативы было стимулирование использования безопасных для окружающей среды и здоровья человека химических веществ. При этом необходимо отметить что термин «зеленая химия» применяется как к химическим веществам, так и к содержащей эти вещества продукции, и к процессам разработки, производства и применения этих веществ и продукции. Для того чтобы считаться «зелеными» химические вещества/продукция/процессы с одной стороны должны способствовать достижению целей устойчивого развития и экологической безопасности, а с другой стороны сами по себе не являться источниками негативного воздействия на окружающую среду и здоровье человека.

В целом в международном сообществе под «зеленой» химией понимается подход при котором предпочтение отдается мероприятиям направленным на защиту здоровья человека и окружающей среды на стадии проектирования/разработки, до того как продукция и/или процессы производства будут воплощены в жизнь. «Зеленая» химия в первую очередь представляет собой инновационный способ управления химическими веществами, когда управляющие решения принимаются до того как химические вещества станут источником опасности и появится риск их негативного воздействия на человека и окружающую среду, риск часто оправдываемый обществом получением в итоге полезной и безопасной продукцией. Таким образом, «зеленая» химия может быть определена как подход или стратегия развития направленные на минимизацию использования токсичных веществ и тем самым на предотвращение загрязнения окружающей среды и негативного воздействия на здоровье человека. Данный подход или стратегия могут быть применены как к отдельному производству, так и к стране в целом. В рамках «Зеленой» химии усилия в первую очередь направлены на то, чтобы уменьшить токсичность находящихся в обращении химических веществ, а не просто разрабатывать схемы управления и утилизации токсичных отходов, образующихся в процессе как производства, так и применения продукции. В этом основное отличие «зеленой» химии от традиционного подхода при котором безопасность обеспечивается за счет разработки подходов к утилизации отходов и обезвреживанию сбросов и выбросов. Например, в рамках «зеленой» химии ведутся работы по созданию дорожных и строительных материалов, поглощающих углекислый газ, причем этот процесс должен с течением времени приводить к утяжелению и упрочнению этих материалов. В рамках «зеленой» химии разрабатываются системы освещения, не содержащие ртути и других токсичных материалов, и экономящие в десятки раз больше энергии, чем люминесцентные лампы. Разрабатываются нано-размерные солнечные батареи, которые могут потом стать частью лакокрасочных покрытий или одежды. Это нововведение будет способствовать продвижению распределенной генерации энергии. В рамках «зеленой» химии также разрабатываются вещества и материалы для бытовой химии и использования в повседневных потребительских товарах. При этом основными целями являются: минимизация выделения токсичных веществ, организация обращения химических веществ по принципу от колыбели до колыбели, минимизация образования сложных и дорогих в утилизации отходов.

Вопросам координации деятельности по созданию и развитию «зеленой» химии в большинстве промышленно-развитых стран уделяется достаточно большое внимание. Например, на портале ОЭСР создана платформа по «зеленой» химии (Sustainability Chemistry Platform), цели которой: обмен информацией, представление сведений о новых разработках, создание стимула и мотивации для развития данной химии и содействие диалогу между заинтересованными сторонами. Основная задача платформы определить конкретные направления и проекты которые могут выиграть от международного сотрудничества (например, химический лизинг или отвечающая целям устойчивого развития и «зеленого» роста нано-продукция).

В Европейском Союзе организована платформа SusChem (European Technology Platform for Sustainable Chemistry) основная цель которой содействовать разработке и продвижению инноваций в области «зеленой» химии и устойчивого развития. В США этим вопросом, занимаются, в том числе, и на государственном уровне. Агентство по охране окружающей среды

(Environment Protection Agency (USA)) внедряет программы по зеленой химии «The USEPA's Green Chemistry Program» одним из инструментов поощрения и мотивации предприятий является премия в области «зеленой химии». В Японии на сайте японского института по инновациям Japan Chemical Innovation Institute (JCII) создана информационная сеть по-священная вопросам зеленой и устойчивой химии (Green & Sustainable Chemistry Network).

Совершенно очевидно, что создание и развитие «зеленой» химии в России также должно базироваться на совместных и скоординированных действиях государства, науки (образования), промышленности и общества.

- Государство, может и должно содействовать развитию в стране «зеленой» химии посредством:
- разработки и финансирования исследовательских программ;
- организации деятельности по информированию промышленности и общества о важности и пользе «зеленой» химии.
- Роль науки (образования) заключается в:
- поведении исследований по оценке воздействия химических веществ и технологий на здоровье человека и окружающую среду;
- участии в передовых, практических исследованиях направленных на создание инновационных промышленных процессов и продукции, экономически выгодных с одной стороны и безопасных для человека и окружающей среды с другой;
- обучении студентов и подготовки научных специалистов, руководителей предприятий и других лиц, работающих в химической отрасли, и прививании им понимания значимости и важности следования на практике принципам «зеленой» химии.
- Промышленность в свою очередь, по мере возможностей, должна:
- синтезировать такие химические вещества и продукцию, и производить их таким образом, чтобы исключить риск негативного воздействия на здоровье человека и окружающую среду;
- постоянно совершенствовать с точки зрения безопасности, энергоэффективности и минимизации отходов как саму продукцию так и процессы ее производства и/или применения,
- предоставлять всем заинтересованным лицам и обществу достоверную информацию о действии химических веществ и содержащей их продукции на здоровье человека и окружающую среду и мерах по обеспечению безопасности при обращении на протяжении всего их жизненного цикла.
- Общество, в первую очередь профессиональные объединения и ассоциации и негосударственные организации, может:
- распространять информацию об последних исследованиях и инновациях в области «зеленой» химии и данные о том, насколько эффективно результаты этих разработок и инновации могут использоваться для удовлетворения потребностей общества;
- устанавливать в соответствии с международ-

ными стандартами критерии для сравнительной оценки «зеленой» химии,

- являться посредником, в том числе и в части распространения информации, между учеными и обществом.

Первым шагом создания в России инновационного технологического кластера, ориентированного на разработку и внедрение на российских предприятиях химической отрасли и связанных с ней отраслей современных технологий и решений, основанных на принципах «зеленой» химии, должна быть организация системы информирования всех заинтересованных лиц о том, что представляет собой «зеленая», какие возможности для бизнеса и общества она представляет и какие конкретные решения и практики имеются как в нашей стране, так и за рубежом.

Следующим шагом должна быть разработка «дорожной карты» перехода к «зеленой» экономике предприятий химической отрасли и смежных с ней отраслей, а также предприятий на которых находятся в обращении химические вещества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. OECD Sustainable Chemistry Platform http://www.oecd.org/env_sustainablechemistry_platform/
2. California Green Chemistry Initiative. Final Report. December 2008
3. Sustainable Chemistry Brochure, OECD, 2004
4. «Зеленая химия в России». Сборник статей, Под редакцией В.В.Лунина, П.Тундо, Е.С.Локтевой. Издательство Московского Университета, 2004.

Макарова А.С. Институт химии и проблем устойчивого развития (РХТУ имени Д.И.Менделеева)

ЮБИЛЕИ

Юрий Иванович МУСИЙЧУК
(к 75-летию со дня рождения)

1 сентября 2007 г. исполнилось 70 лет лауреату Государственной премии СССР, доктору медицинских наук, профессору Юрию Ивановичу Мусийчуку.

Начало врачебного и научного пути Юрия Ивановича связано с 1-ым Ленинградским медицинским институтом им. акад. И.П. Павлова, после окончания которого в 1960 г. он продолжил обучение в клинической ординатуре и аспирантуре при кафедре госпитальной терапии. В клинической аспирантуре занимался вопросами диагностики ревматических пороков сердца и сократительной способности миокарда с помощью электрокардиографии. С 1965 по 1967 г. Юрий Иванович работал в родном институте на должностях врача баротерапии Центральной научно-исследовательской лаборатории, а затем ассистентом кафедры госпитальной терапии.

В 1967 г. Юрий Иванович переходит на работу в Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Минздрава СССР и РФ, где проходит путь от младшего научно-сотрудника до директора института. За годы работы в этом институте Юрий Иванович в 1982 г. становится лауреатом Государственной премии за разработку автоматизированной аппаратуры массовых осмотров рабочих опасных химических производств, в 1985 г. защищает докторскую диссертацию по проблемам клинической токсикологии, профпатологии и организации медицинского обеспечения работников производств отравляющих веществ.

Научная и организаторская деятельность Юрия Ивановича не ограничивалась только стенами института. С 1980 по 1997 г. он одновременно являлся Главным профпатологом 3-го Главного управления при Минздраве СССР (сейчас – Федеральное медико-биологическое агентство), организовывал семинары для врачей, участвовал в инспектировании медсанчастей. Ю.И. Мусийчук являлся членом редколлегии и редактором журнала «Бюллетень гигиены, токсикологии и профпатологии ракетных топлив» (1970-1996), членом редколлегии журнала «Медицина труда и промышленная экология» (1991-1997). С 1992 по 1996 г. Юрий Иванович был экспертом Минздрава России по проблемам уничтожения химического оружия.

С 1996 г. он работал заведующим Городским организационно-методическим отделом Комитета по здравоохранению Администрации Санкт-Петербурга, с 2002 г. – заместителем директора Санкт-Петербургского медицинского информационно-аналитического центра. С 1997 г. и по настоящее время занимает должность профессора кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии.

В течение более 30 лет Ю.И. Мусийчук занимался профессиональной патологией высокотоксичных химиче-

ских веществ (гидразин, нитроэфиры, этиленмин, фтор и его производные, углеводороды, фосфорорганические отравляющие вещества и др.). Наиболее значимыми являются его исследования, посвященные острым интоксикациям и их отдаленным последствиям, а также хроническим отравлениям при действии фосфорорганических отравляющих веществ. Значительное число исследований посвящено проблемам оценки здоровья населения в связи с загрязнением окружающей среды, особенностям влияния на здоровье геологического строения земной коры и загрязнения атмосферы. Большое внимание Юрий Иванович уделял вопросам организации медицинской помощи, в том числе и при химических авариях. Будучи главным профпатологом 3-го Главного управления при Минздраве РФ, он постоянно передавал врачам знания, полученные при научно-исследовательских работах, на организованных им семинарах по вопросам профпатологии для врачей медсанчастей химической промышленности.

Ю.И. Мусийчук – автор, соавтор и редактор более 400 научных работ, в том числе 65 монографий, справочников, сборников и брошюр, 7 изобретений, более 50 официальных руководящих документов по вопросам медицинского обеспечения химической безопасности, продолжает подготовку справочного издания «Вредные вещества в окружающей среде». Под его руководством подготовлено и защищено 3 докторских и 12 кандидатских диссертаций. За многолетнюю плодотворную деятельность в области токсикологии и профпатологии он награжден орденом «Знак Почета» и несколькими медалями.

В настоящее время Ю.И. Мусийчук ведет активную преподавательскую деятельность на кафедре военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Обладая энциклопедическими знаниями и богатейшим собственным опытом медицинского обеспечения ликвидации химических аварий и катастроф, Юрий Иванович даже наиболее сложные вопросы токсикологии делает доступными и легкими для понимания слушателями. Наряду с проведением учебных занятий на кафедре военной токсикологии и медицинской защиты, он часто выезжает на объекты уничтожения химического оружия, где на местах осуществляет подготовку врачей и среднего медицинского персонала.

Поздравляем юбиляра со знаменательной датой, желаем ему здоровья, благополучия, активного долголетия и творческих успехов.

**Всероссийская общественная
организация токсикологов,
Санкт-Петербургское**

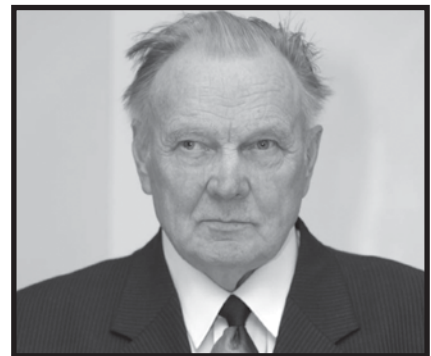


**научное общество
токсикологов,
Военно-медицинская
академия,
Научно-исследовательский
институт гигиены,
профпатологии и экологии
человека ФМБА,
редакция журнала
«Токсикологический вестник»**

НЕКРОЛОГ

*Санкт – Петербургское отделение всероссийской общественной организации токсикологов сообщает о скоропостижной кончине 5 сентября 2012 года старейшего токсиколога Ленинградской школы токсикологов
Александра Освальдовича Лойта.*

Александр Освальдович Лойт



Александр Освальдович Лойт родился 1 февраля 1932 года.

После окончания Военно-морского факультета при I Ленинградском медицинском институте им. акад. И.П.Павлова и службы корабельным врачом на Северном Флоте, научную деятельность начал в 1959 году под руководством заслуженного деятеля науки РФ, профессора Н.В.Лазарева в Ленинградском НИИ гигиены труда и профзаболеваний. Александр Освальдович был одним из последних учеников Н.В.Лазарева и на всю жизнь сохранил преданность идеям своего Учителя. Александр Освальдович был в числе инициаторов проведения регулярной научно-практической конференции «Лазаревские чтения», посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ профессора Н.В.Лазарева.

Александр Освальдович работал в Ленинградском НИИ гигиены труда и профессиональных заболеваний до 1966 года. В 1964 году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. С 1966 по 1991 год работал в Институте гигиены и профпатологии МЗ СССР заведующим лабораторией токсикологии. В 1974 году защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Область научных интересов Александра Освальдовича Лойта широко представлена в 300 научных работах, среди которых монографии, учебные пособия. Научные труды А.О.Лойта посвящены экспрессной оценке токсичности химических веществ, проблемам общей и профилактической токсикологии, истории становления ток-

сикологии как науки. Александр Освальдович Лойт с 1991года по 1998 год заведовал кафедрой токсикологии ГОУ ДПО Санкт-Петербургская медицинская академия последиplomного образования.

Александр Освальдович Лойт внедрил в практику экспрессный метод определения токсичности и опасности химических веществ, экспериментально оценил токсичность более 350 новых химических веществ, имеющих важное народно-хозяйственное значение. Много внимания Александр Освальдович уделял подготовке специалистов высшей квалификации по токсикологии. Среди учеников Александра Освальдовича научные сотрудники научно-исследовательских институтов, преподаватели высшей школы, руководители органов практического здравоохранения. За многолетний добросовестный труд А.О. Лойт награжден орденом «Знак почета», тремя медалями, значком «Отличник здравоохранения».

БЮЛЛЕТЕНЬ



Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДН 574.635:574.632.017

Детергент Liquid Crystal Concentrate (LCC): воздействие на макрофиты *Elodea canadensis*

Остроумов С.А.,
Соломонова Е.А.

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова, биологический факультет

Исследовали воздействие концентрированной смеси анионных и неионогенных поверхностно-активных веществ (ПАВ) LIQUID CRYSTAL CONCENTRATE (LCC), производимой Stephenson Group Ltd. (Англия). Препарат LCC применяется в качестве основы при производстве косметических моющих средств (шампуней, жидкого мыла, пены для ванн), продается и используется на территории РФ.

Состав: вода (25% – 50%), ПАВ лауретсульфат натрия:

Таблица 1

Характеристика микрокосмов, Биомасса макрофитов *Elodea canadensis* в микрокосмах.

Концентрация LCC (мкл/мл) в водной среде микрокосмов	Порядковый номер микрокосма	Биомасса (сырой вес), г
контроль	1	10,82
	2	7,30
	3	7,51
20,00	4	6,94
	5	6,95
	6	6,00
50,00	7	10,10
	8	6,94
	9	5,89
100,00	10	10,8
	11	5,78
	12	5,87
150,00	13	10,40
	14	8,32
	15	7,46

25% – 50%, пропилен гликоль 1-5%, хлорид натрия 1-5%, кокамидоксид 1-5%, кокоамидопропил бетаин 1-5%, лимонная кислота 0,1-1,0%, тетранатрия ЭДТА (хелатирующий агент) 0,1-1,0%, поликватерниум-7 0,1-1,0%, нитрат магния <0,1%, хлорид магния <0,1%, метилхлороизоотиазолинон* <0,1%, метилизотиозолинон* <0,1% (*всего 9 ppm активного изотиозолинона).

Свойства: бесцветная прозрачная или слегка мутная вязкая жидкость. pH (неразбавленный) 6 – 7. Вязкость: максимум 6000 сПз при 25°C.

Предыдущие исследования выявили токсичность анионных ПАВ (АПАВ) для высших растений [1; 2; 3]. Наличие в составе препарата LCC АПАВ лауретсульфата натрия делает необходимым проверку возможной фитотоксичности для макрофитов *Elodea canadensis*, широко распространенного вида в водных экосистемах.

Опыты ставили по ранее описанной и использованной методике [1, 5, 6]. При постановке опытов в микрокосмы (объем воды – 1,0 л) помещали макрофитами *E. canadensis* по три побега растений в сосуде, суммарной биомассой – 7,9± 3,6 г. (сырой вес) Весовое количество биомассы растений в микрокосмах указано в таблице 1. Опыты проводили в условиях естественной фотопериодичности, в трехкратных повторностях, при температуре воды 11,5± 2,5 °С. Концентрация однократных добавок препарата LCC составляла 50,00; 100,00; 150,00 мкл/мл.

Полученные результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что тестируемый препарат обладает фитотоксичностью.

В опыте на фитотоксичность через 7 суток наблюдали снижение тургора при концентрации препарата LCC 50,00; 100,00 и 150,00 мкл/мл и истощение листовых пластинок при концентрации LCC 100,00 и 150,00 мкл/мл. Выявлена также частичная депигментация побегов.

Отмечено изменение в распределении фитомассы побегов растений в объеме водной среды микрокосмов. В контроле фитомасса распределяется по всему объему водной среды и заполняет весь столб воды от ее поверхности до дна микрокосма. В микрокосмах, где в водную среду добавили тестируемый препарат, фитомасса опускается вниз и верхняя часть столба воды оказывается лишенной фитомассы побегов растений.

При концентрации 150,00 мкл/мл процент столба воды, не занятый в верхней его части макрофитами, составлял 25-30%. В водной среде без добавленного препарата, т.е. в контрольных микрокосмах, не содержащих LCC, процент столба воды, не занятый макрофитами – 0-2% (иными словами, весь столб воды до самого верха занят фитомассой). Через 21 сутки

при концентрации LCC 150,00 мкл/мл процент столба воды, не занятый в верхней его части макрофитами, составил 35-40%, и зарегистрирована гибель макрофитов.

Отметим, что негативные эффекты при воздействии тестируемого препарата проявлялись и при значительно меньших концентрациях – практически при всех тестируемых концентрациях LCC, включая концентрацию LCC 50 мкл/мл. Полученные результаты дополняют данные ранее проведенных опытов, которые показали нарушение общего состояния и биологических функций гидробионтов при воздействии других тестируемых веществ – в том числе индивидуальных ПАВ [6; 8; 9] и ПАВ-содержащих смесевых препаратов [4; 5; 7].

Таблица 2

Состояние макрофитов *E. canadensis* при воздействии концентрата анионных и неионогенных ПАВ Liquid Crystal Concentrate (LCC). Минимальная и максимальная концентрация лауретсульфата указана в соответствии со спецификацией тестируемого препарата и указанными в ней минимальной и максимальной концентрациями этого вещества в препарате (мин. 25%, макс 50%)

Концентрация LCC (мкл/мл) в водной среде микрокосмов	Концентрация лауретсульфата в микрокосме: минимальная концентрация лаурет сульфата натрия в составе LCC (мкг/мл)	Концентрация лауретсульфата в микрокосме: максимальная концентрация лаурет сульфата натрия в составе LCC (мкг/мл)	Состояние макрофитов <i>E. canadensis</i>	
			Через 7 суток	Через 21 сутки
0,00 (контроль)	0,00	0,00	Нормальный тургор и состояние листовых пластинок	Нормальный тургор и состояние листовых пластинок
50,00	12,50	25,00	Снижение тургора	Снижение тургора
100,00	25,00	50,00	Снижение тургора, частичная депигментация листовых пластинок	Гибель более 50% макрофитов
150,00	37,50	75,00	Снижение тургора, частичная депигментация листовых пластинок	Гибель 100% макрофитов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Остроумов С. А. Некоторые аспекты оценки биологической активности ксенобиотиков // Вестник Московского ун-та, серия 16. Биология. – 1990. – № 2. – С.27-34.
2. Остроумов С. А. Биологические эффекты при воздействии поверхностно-активных веществ на организмы. М.: МАКС-Пресс. 2001. 334 с.
3. Остроумов С.А., Соломонова Е.А. Изучение диапазона устойчивости макрофита *Potamogeton crispus* L. в условиях микрокосмов, содержащих додецилсульфат натрия // Технологии живых систем. – 2010. – № 2. – С. 10-17.
4. Остроумов С.А., Соломонова Е.А. Синтетическое моющее средство «Аист-Универсал»: воздействие на *Fontinalis antipyretica* Hedw. // Токсикологический Вестник. – 2007. – № 1. – С. 40-41.
5. Остроумов С.А., Соломонова Е.А. Жидкий детергент «Amway Dish Drops»: воздействие на водный макрофит *Elodea canadensis* // Токсикологический вестник. – 2009. – № 3. – С. 48-49.
6. Соломонова Е. А., Остроумов С. А. Воздействие додецилсульфата натрия на биомассу макрофитов *Najas guadelupensis* L. // Токсикологический вестник. – 2009. – №2. – С. 32-35.
7. Ostroumov S.A. Problems of assessment of biological activity of xenobiotics. // Moscow University Biological Sciences Bulletin. – 1990. – Vol. 45 (2). – P. 26-32.
8. Ostroumov S.A., Samoilenko L.S. Assessment of the Efficiency of Biotechnological Destruction of Anionic Surfactant Using Biological Tests // Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 16 Biologiya. – 1990. – No.3. – P. 74-78.
9. Solomonova E.A., Ostroumov S.A. Tolerance of an aquatic macrophyte *Potamogeton crispus* L. to sodium dodecyl sulphate // Moscow University Biological Sciences Bulletin. – 2007. – Vol. 62. – Number 4. – P. 176-179.

УДК 615.91

Кратерр, КС

Хорошилова Н.В., Карпухина Е.А., Каютина С.В., Ткачева Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда» Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИ МТ» РАМН), г. Москва

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда» Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИ МТ» РАМН), Москва

Препаративная форма: концентрат суспензии (КС). В качестве действующего вещества в препарате использован N2,N4-диизопропил-6-метилтио-1,3,5-Триазин-2,4-диамин (син. прометрин), C₁₀H₁₉N₅S, CAS [7287-19-6], шифр СІРАС (Международного совместного аналитического совета по пестицидам) 93, по химическому строению относится к группе – триазины. Содержание действующего вещества в препарате – 500 г/л. Представляет собой белую густую жидкость, образующую с водой устойчивую суспензию. Применяется в сельском хозяйстве в качестве гербицида для борьбы с послевсходовыми сорняками.

Оценка токсичности и опасности проводилась на инбредных лабораторных животных питомника РАМН «Андреевка» согласно отечественной нормативной документации (Приказ МЗ РФ № 267 от 19 июня 2003 г «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных»). DL₅₀ для мышей- самок при введении в желудок составила 2600±287 мг/кг, для крыс- самок – 3700±306 мг/кг, что характеризует вещество как умеренно опасное (III класс, по классификации ГОСТ 12.1.007-76). Клиническая картина отравления характеризуется гиподинамией, затрудненностью дыхания, признаками раздражения слизистых оболочек. Гибель животных наступала в течение первых 2-х суток. Смертельные концентрации при ингаляционном воздействии не достигнуты.

Продукт обладает слабым кожно-раздражающим действием в острых и повторных опытах на кроликах и мышах. При нанесении в нативном виде на слизистые оболочки глаз кроликов вызывает слабое раздражающее действие (слезотечение, гиперемия конъюнктивы).

Оценка кожно-резорбтивных свойств препарата проводилась в эксперименте при однократном и повторном нанесении его в нативном виде на кожу кроликов и мышей. Гибели и видимых клинических признаков интоксикации не отмечено. Кожно-резорбтивным действием КРАТЕРР, КС в острых и повторных опытах не обладает.

Результаты экспериментального исследования показали, что препарат КРАТЕРР, КС в нативном виде вызывает положительные реакции на кожные разрешающие пробы у 75% подопытных морских свинок (6 из 8 животных). В реакциях клеток крови на исследуемое вещество *in vitro* установлено более 50% положительных реакций, причем среднegrupповые величины показателей статистически достоверно отличались от контроля. Проведенное исследование выявило изменения в лейкоцитарной формуле подопытных животных по сравнению с контрольными: отмечено долевое увеличение лимфоцитов и снижение сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови.

Принимая во внимание наличие признаков сенсибилизирующего действия у 75% животных по кожным пробам, при статистически достоверных различиях среднegrupповых показателей РСАЛ и РСЛЛ, препарат КРАТЕРР, КС (500 г/кг прометрин) по сенсибилизирующему действию можно отнести ко 2 классу подклассу.В – сильные аллергены (Гигиеническая классификация пестицидов по степени опасности. Методические рекомендации №2001/26).

Материал поступил в редакцию 23.07.2012 г.

УДК 615.91

Дикамерон гранд, ВДГ

Карпухина Е.А., Каютина С.В., Хорошилова Н.В., Ткачева Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда» Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИ МТ» РАМН), г. Москва

Препаративная форма: водно-диспергируемые гранулы (ВДГ). В качестве действующих веществ в препарате использованы производные бензойной кислоты и сульфонилмочевин, а именно 2-метокси-3,6-дихлорбензойная кислота (син. дикамба), C₈H₆Cl₂O₃, CAS [1918-00-9], шифр СІРАС (Международного совместного аналитического совета по пестицидам) 85, и 1-(2-хлорфенилсульфонил)-3-(6-метил-4-метокси-1,3,5-триазин-

2-ил) мочевины (син. хлорсульфурон), C₁₂H₁₂ClN₅O₄S, CAS [64902-72-3], шифр СІРАС (Международного совместного аналитического совета по пестицидам) 391. Содержание действующего вещества – 659 г/кг дикамбы + 41 г/кг хлорсульфурона. Представляет собой гранулы бежевого цвета, хорошо растворимые в воде. Применяется в сельском хозяйстве в качестве гербицида.

Оценка токсичности и опасности проводилась на инбредных

лабораторных животных питомника РАМН «Андреевка» согласно отечественной нормативной документации (Приказ МЗ РФ № 267 от 19 июня 2003 г «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных»). DL_{50} для мышей-самок при введении в желудок составила 5700 ± 314 мг/кг, для крыс-самок – 7200 ± 256 мг/кг, что характеризует препарат как малоопасный (IY класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76).

Клиническая картина отравления характеризовалась сукровичными выделениями из носа, затрудненностью дыхания, парезом передних и задних конечностей. Гибель животных наступала на 2-е -3-и сутки.

При однократном ингаляционном воздействии (в насыщающих концентрациях при 20°C) гибели мышей не наблюдалось, отмечены слабо выраженные клинические признаки интоксикации: гиподинамия, затрудненное дыхание, раздражение слизистых оболочек.

ДИКАМЕРОН ГРАНД, ВДГ обладает слабым кожно-раздражающим действием в острых опытах на кроликах и мышах и умеренным раздражающим действием при повторном воздействии.

При нанесении в нативном виде на слизистые оболочки глаза кролика отмечен умеренный раздражающий эффект (слезотечение, гиперемия конъюнктивы, отек век).

Кожно-резорбтивное действие продукта в острых и повторных опытах на кроликах и мышах не выявлено.

ДИКАМЕРОН ГРАНД, ВДГ проявляет слабые кумулятивные свойства (по методу Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича, на белых крысах; $K_{сум} > 5$) и относится к 4-му классу опасности (Гигиеническая классификация пестицидов по степени опасности. Методические рекомендации № 2001/26 от 16.04.01). Дикамерон Гранд, ВДГ обладает функциональной кумуляцией. При повторном введении в желудок крысам в дозе 700 мг/кг в течение 2-х месяцев оказывает общетоксическое действие с преимущественным поражением нервной системы и функции почек. Выявлено достоверное угнетение поведенческих реакций в тесте «Открытое поле» и ТКСО, статистически значимое увеличение уровня белка и снижение концентрации хлоридов в моче, снижение массы и коэффициента массы почек.

Эксперимент по оценке сенсibilизирующих свойств препарата ДИКАМЕРОН ГРАНД, ВДГ проводили на морских свинках комбинированным методом (однократная внутрикожная инъекция с последующими, повторными эпикутанными аппликациями). Выявлено наличие признаков сенсibilизирующего действия более чем у 50 % животных по кожным пробам, изменение в лейкоцитарной формуле подопытных животных по сравнению с контрольными (долевое увеличение эозинофилов в периферической крови), статистически достоверные различия среднegrupповых показателей РСАЛ и РСЛЛ. Согласно полученным результатам препарат Дикамерон Гранд, ВДГ по сенсibilизирующему действию относится ко 2-му классу подклассу В сильных аллергенов (Гигиеническая классификация пестицидов по степени опасности. Методические рекомендации № 2001/26 от 16.04.01).

Материал поступил в редакцию 23.07.2012 г.

РЕЕСТР СВИДЕТЕЛЬСТВ О ГОСУДАРСТВЕННОЙ РЕГИСТРАЦИИ

(единая форма Таможенного союза, российская часть)

№ п/п	Наименование продукта	Производитель	Получатель	Номер свидетельства о государственной регистрации, дата регистрации	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS/EC	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер РПОХБВ
1.	J 450	OIES INC (OILFIELD EQUIPMENT & SUPPLIES INC) Pesetastraat 40, 2991 XT Barendrecht (Приложение)	Представительство компании «Шлюмберже Лоджелко, Инк.» в г. Москва, 125171, г. Москва, Ленинградское шоссе, д. 16А, стр.3 (Российская Федерация)	RU.77.99.21.008. E.000708.01.12 от 16.01.2012	Три(2-гидроксиэтил)амин	102-71-6/ 203-049-8	2,2',2''-Нитрилотриэтанол, 2,2',2''-тригидрокситриэтиламин, три(гидроксиэтил)амин; триэтанолламин	серия ВТ № 000013

№ п/п	Наименование продукта	Производитель	Получатель	Номер свидетельства о госрегистрации, дата регистрации	Наименование вещества по ИУРАС	№ CAS/ЕС	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер РПОХБВ
2	Irganox® MD 1024	BASF SE (БАСФ SE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственные филиалы: Ciba Inc Hardmatt 434 5082 Kaisten Switzerland, Швейцария; Ciba Inc. MD 1024 Mogy Japan, Япония) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Кадашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001042.01.12 от 18.01.2012	2-[3-[3,5-Бис(1,1-диметилэтил)-4-гидроксифенил]-1-оксопропил]- гидрид-3,5-бис(1,1-диметилэтил)-4-гидроксибензол-пропановая кислота	32687-78-8/ 251-156-3	2',3'-Бис[[3-[3,5-дигрет-бутил-4-гидроксифенил]-пропионил]] пропионогидразид	серия ВТ № 003380
3	Irganox® 1098 ED, Irganox® 1098	BASF SE (БАСФ SE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: Ciba Inc Hardmatt 434 5082 Kaisten Switzerland, Швейцария) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Кадашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001101.01.12 от 18.01.2012	N,N'-Гексан-1,6-дилбис[3,5-бис(1,1-диметилэтил)-4-гидроксибензолпропанамид]		N,N'-Гексан-1,6-дилбис[3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилпропанамид]	серия ВТ № 003616
4	L058	«OIES INC (OILFIELD INTERNATIONAL EQUIPMENT & SUPPLIES INC)», Pesetastraat 40, 2991 XT Barendrecht, (филиал: 27/F Tower A, City Center of Shanghai, 100 Zun Yi Road, Shanghai, 200051 China) (Нидерланды)	Представительство компании «Шлюмберже Лоджелко, Инк.» в г. Москва, 125171, г. Москва, Ленинградское шоссе, д. 16А, стр.3 (Российская Федерация)	RU.77.99.21.008. E.000698.01.12 от 16.01.2012	гамма-Лактон В-эритрогекс-2-еноата натрия	6381-77-7/ 228-973-9	L058	серия ВТ № 002912
5	N-Methylaniline (N-Метиланилин)	«Changzhou Baolong Chemical Industrial Co., Ltd», No. 1 Weihua Road, Xinbei District, Changzhou City, Jiangsu Province (Китайская Народная Республика)	ООО «Кастор Индустрия», 197342, Санкт-Петербург, ул. Сердобольская, д. 68 (Российская Федерация)	RU.77.99.88.008. E.000928.01.12 от 17.01.2012	N-Метиланилин	100-61-8/ 202-870-9	N-Монометиланилин; N-метилфениламин; N-фенилметиламин; N-метилбензоламин; (метиламино) бензол	серия ВТ № 000081
6	Sulfenax TBBS (СУЛЬФЕНАКС ТББС)	«DUSLO, a.s. Sal'a», 927 03 Sal'a, Slovak Republic (Словакия)	ООО «Э-Волюшн Тайр», 119034, г. Москва, Лопухинский переулок, д. 6, строение 1, этаж 1, помещение А (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.000975.01.12 от 17.01.2012	N-(1,1-Диметилэтил)-2-бензотиазолсульфенамид	95-31-8/ 202-409-1	N-трет-Бутил-2-бензотиазол-сульфенамид; бензотиазол-2-трет-бутилсульфенамид	серия ВТ № 002007
7	TEGO Dispers 653	«Evonik Tego Chemie GmbH», Goldschmidtstr. 100, 45127 Essen (Германия)	ЗАО СП «Интердисп», 192019, СПб., ул. Проф. Качалова, д. 11 лит. А (Российская Федерация)	RU.77.99.88.008. E.001033.01.12 от 17.01.2012	Полимер фенилоксирана с метилоксираном и моноэтилдигидрофосфатом	308336-62-1/	Эфир моноэтилгидрофосфата и полимера фенилоксирана с метилоксираном, TEGO Dispers 653 (30% водный раствор вещества)	серия ВТ № 003603
8	Triton M Powder, Triton M Granules, Triton M Compactate	BASF SE (БАСФ SE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Coporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Кадашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001103.01.12 от 18.01.2012	Метилнитролтриацетат тринатрия	164462-16-2/423-270-5	N,N-Бис (карбоксиметил)аланин тринатрия; бис (карбоксиметил)-DL-аланин тринатрия; DL-аланин-N,N-диуксусной кислоты тринатриевая соль	серия ВТ № 003612

№ п/п	Наименование продукта	Производитель	Получатель	Номер свидетельства о государственной регистрации, дата регистрации	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS/EC	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер РПОХБВ
9	Trilon M Liquid	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Corporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Калашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001102.01.12 от 18.01.2012	Метилнитрилотриацетат тринатрия	164462-16-2/423-270-5	N,N-Бис(карбоксиметил) аланин тринатрия; бис(карбоксиметил)-DL-аланин тринатрия; DL-аланин-N,N-диуксусной кислоты тринатриевая соль	серия ВТ № 003612
10	Trilon AS	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Corporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Калашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001040.01.12 от 18.01.2012	Нитрилотриуксусная кислота	139-13-9/205-355-7	N,N-Бис(карбоксиметил) глицин, три(карбокси-метил)амин; альфа,альфа',альфа''-триметиламинотрикарбоновая кислота	серия ВТ № 003611
11	Trilon BD, Trilon BDF	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Corporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Калашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001036.01.12 от 18.01.2012	Дигидро (этилендинитрило)тетраацетат динатрия	139-33-3/205-358-3	Этилендиаминтетрауксусной кислоты динатриевая соль; N,N'-1,2-этандинилбис[N-(карбоксиметил)глицин] динатрия; этилендиаминтетраацетат динатрия; ЭДТА динатриевая соль; Трилон-БД	серия ВТ № 003440
12	Trilon A Liquid	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Corporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Калашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001039.01.12 от 18.01.2012	Нитрилотриацетат тринатрия	5064-31-3/225-768-6	N,N-бис(карбоксиметил) глицин тринатрия, аммоно триацетат тринатрия; нитрилотриуксусная кислота, тринатриевая соль; нитрилотриацетат тринатрия (40% водный раствор)	серия ВТ № 002919
13	Trilon B Liquid; Trilon BX Liquid	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Corporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Калашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001041.01.12 от 18.01.2012	N,N'-1,2-Этандинилбис [N-(карбоксиметил)глицинат] тетранатрия	64-02-8/200-573-9	Этилендиаминтетраацетат тетранатрия, этилендиаминтетрауксусной кислоты тетранатриевая соль; N,N'-1,2-этандинилбис-(N-(карбоксиметил)глицин) тетранатриевая соль, ЭДТА тетранатриевая соль	серия ВТ № 002773
14	Trilon B Powder; Trilon BX Powder; Trilon BX Dihydrate Powder	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Corporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Калашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001045.01.12 от 18.01.2012	N,N'-1,2-Этандинилбис [N-(карбоксиметил)глицинат] тетранатрия	64-02-8/200-573-9	Этилендиаминтетраацетат тетранатрия, этилендиаминтетрауксусной кислоты тетранатриевая соль; N,N'-1,2-этандинилбис-(N-(карбоксиметил)глицин) тетранатриевая соль, ЭДТА тетранатриевая соль	серия ВТ № 002773

№ п/п	Наименование продукта	Производитель	Получатель	Номер свидетельства о государственной регистрации, дата регистрации	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS/EC	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер РПОХВ
15	Trilon BS	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Corporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Кадашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001044.01.12 от 18.01.2012	N,N'-1,2-Этандинилбис[N-(карбоксиметил)глицин]	60-00-4/200-449-4	Этиленбисиминодиуксусная кислота; этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТУК); Ethylenediamine Tetraacetic acid (EDTA)	серия ВТ № 000904
16	Trilon C Liquid; Trilon C Liquid 50%	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: BASF Corporation, 100 Campus Drive, Florham Park, NJ 07932-1089, USA) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Кадашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001037.01.12 от 18.01.2012	N,N-Бис[2-[бис(карбоксиметил)амино]этил]аминоацетат пентанатрия	140-01-2/205-391-3	N,N-Бис[2-[бис(карбоксиметил)амино]аминоэтил] глицин пентанатриевая соль, (карбоксиметиллимино)бис-(этиленнитрило)тетраацетат пентанатрия, диэтиленитриаминопентауксусной кислоты пентанатриевая соль	серия ВТ № 002194
17	U066/Mutual Solvent U66	«OIES INC (OILFIELD INTERNATIONAL EQUIPMENT & SUPPLIES INC)» Pesetastraat 40, 2991 XT Barendrecht (адреса производств: Dr.-Albert-Frank-Str. 32, TROSTBERG, Germany; 6717 S 61 ST WEST AVE, Tulsa, OK 74131, USA) (Нидерланды)	Представительство компании «Шломберже Лоджелко, Инк.» в г. Москва, Ленинградское шоссе, д. 16А, стр.3 (Российская Федерация)	RU.77.99.21.008. E.000699.01.12 от 16.01.2012	2-Бутоксизанол	111-76-2/203-905-0	Монобутиловый эфир этиленгликоля, бутилгликоль, бутилцеллозольв	серия ВТ № 000374
18	Uvinul* 3030, Uvinul* 3030 FF	BASF SE (BASF CE), Carl-Bosch-Strasse, 38, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (Производственный филиал: Ciba Inc.Hardmatt 434 5082 Kaisten Switzerland, Швейцария) (ФРГ)	ЗАО «БАСФ», 119017, г. Москва, Кадашевская наб., д. 14, к. 3 (Российская Федерация)	RU.77.99.44.008. E.001100.01.12 от 18.01.2012	1,3-Бис[(2'-циан-3,3'-дифенилпроп-2-енил)окси]-2,2'-бис[(2'-циан-3,3'-дифенилпроп-2-енил)окси]метил]пропан	178671-58-4/429-160-3	Тетракис(2-циано-3,3-дифенилакрилат)-пентаэритритол; 2,2-бис[[[2-циан-1-оксо-3,3-дифенил-2-пропенил]окси]метил]-1,3-пропандил эфир с 2-циан-3,3-дифенил-2-пропеновой кислотой	серия ВТ № 003613

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

● Организация работы подвижных токсико-радиологических групп центров государственного санитарно-эпидемиологического надзора в чрезвычайных ситуациях: Руководство. – М.: ГВМУ МО РФ, 2012. – 84 с.

Руководство содержит описание задач, состава и предназначения токсикологических, радиологических и токсико-радиологических групп центров государственного санитарно-эпидемиологического надзора МО РФ в целях наиболее эффективного их использования при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций радиационной и химической природы. В приложениях к Руководству представлено материально-техническое оснащение подвижных токсикологических, радиологических и токсико-радиологических групп, варианты укладки медицинского имущества, номенклатура индикаторных трубок для определения высокотоксичных химических веществ, вариант расчета на содержание и использование подвижных групп, инструкции должностным лицам, ответственным за организацию работы групп, схемы развертывания токсико-радиологических групп и функциональные обязанности их личного состава, этапы проведения экспертизы воды и продовольствия на зараженность высокотоксичными химическими веществами, состав, назначение и способы применения дегазирующих растворов, образцы оформляемых документов и другие справочные материалы.

Руководство утверждено начальником Главного военно-медицинского управления Министерства обороны Российской Федерации 17 февраля 2012 года и введено в действие с момента утверждения. Руководство предназначено для начальников медицинской службы, главных государственных санитарных врачей военных округов, флотов, видов Вооруженных Сил, родов войск, руководителей и медицинских специалистов центров государственного санитарно-эпидемиологического надзора, привлекаемых для участия в работе подвижных токсико-радиологических групп. Кроме того, Руководство может рассматриваться в качестве учебного пособия для курсантов Военно-медицинской академии, студентов медицинских вузов, а также слушателей факультетов дополнительного медицинского образования.

В подготовке Руководства принимали участие специалисты Военно-медицинской академии (ВМедА) и 736 главного центра государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства обороны РФ: доктор медицинских наук, профессор, полковник медицинской службы А.Н. Гребенюк, кандидат медицинских наук подполковник медицинской службы В.В. Конев, кандидат медицинских наук полковник медицинской службы Д.А. Сидоров, кандидат

медицинских наук подполковник медицинской службы О.С. Сидоров, кандидат медицинских наук подполковник медицинской службы Ю.В. Шилов, полковник медицинской службы И.И. Азаров.

Рецензенты Руководства выступили заведующий кафедрой общей и военной эпидемиологии ВМедА – главный эпидемиолог МО РФ доктор медицинских наук, профессор П.И. Огарков, заведующий кафедрой общей и военной гигиены ВМедА – главный гигиенист МО РФ кандидат медицинских наук, доцент С.М. Кузнецов, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ВМедА доктор медицинских наук, профессор Н.А. Смирнов.