# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Toxicological Review*

*Научно-практический журнал*

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

№5 (122), **2013**


## СОДЕРЖАНИЕ



## CONTENTS

УДК 547.1 : 57.04

# ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

*Н.Г. Войтенко,*
*Д.С. Прокофьева,*
*Н.В. Гончаров*

*Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства, 188663, г. Санкт-Петербург*

Обзор посвящен проблемам поиска и использования биомаркеров в диагностике различных заболеваний с акцентом на сложности их применения в области токсикологии в частности в токсикологии фосфорорганических соединений (ФОС). Описаны фазы исследования при поиске биомаркеров и общие принципы оценки их диагностического значения. Описаны подходы к диагностике отравлений ФОС, предложены пути повышения эффективности поиска биомаркеров для диагностики отравлений ФОС.

***Ключевые слова:*** *биомаркер, диагностика, фосфорорганические соединения.*

Фосфорорганические соединения (ФОС) широко используются в сельском хозяйстве и промышленности в качестве пестицидов, пластификаторов, компонентов в синтезе лекарственных веществ, полимерных материалов [1]. Некоторые высокотоксичные соединения – так называемые фосфорорганические отравляющие вещества (ФОВ) – являются компонентами химического оружия [2, 3]. Последняя группа привлекает особое внимание в связи с необходимостью обеспечения мониторинга здоровья персонала, работающего на объектах по хранению и уничтожению химического оружия (ОХУХО), а также граждан, проживающих и работающих в зоне защитных мероприятий.

Ограничения традиционных биохимических методов диагностики отравлений ФОС, основанных на определении активности холинэстераз, стимулировали поиск других подходов к решению этой проблемы. В настоящее время исследования многих специалистов, работающих в области токсикологии, сосредоточены главным образом на поиске продуктов деструкции ФОС или их аддуктов с белками, сохраняющихся в организме в течение более или менее длительного периода, с целью доказательства факта взаимодействия с ФОС [4, 5]. Современные методы масс-спектрометрического анализа позволяют определять аддукты ФОС и ФОВ с бутирилхолинэстеразой и альбумином [6–9]. Аддукты с альбумином оказались более долгоживущими – до 24 дней после отравления смертельными дозами зомана с применением оксимной терапии [10]. Несмотря на достигнутые успехи в этой области, поиск аддуктов ФОВ в отдаленные сроки после воздействия особенно затруднен в связи с их высокой токсичностью и, следовательно, малым количеством вещества, присутствующим в организме. Проблема состоит в том, что обнаружение аддуктов (или, наоборот, их необнаружение спустя, например, месяц после отравления) с помощью высокоспецифичных химических методов не дает ответа на вопрос ни о тяжести отравления, ни о характере контакта организма с токсикантом (подострое или хроническое отравление, суммарная доза и т.п.). Цель диагностики – это определение состояния пациента, которое характеризуется изменением комплекса биохимических, иммунологических и других показателей (биомаркеров). Логическим продолжением диагностики являются прогнозирование, профилактика и коррекция выявленных нарушений (лечение). Поиск аддуктов относится скорее к области токсикокинетических исследований, что, безусловно, важно, но в строгом смысле эти аддукты нельзя считать биомаркерами, если руководствоваться определением этого термина от 2001 г. как показателем состояния организма [11].

Термин «биомаркер» обычно используют для обозначения любого показателя, отражающего взаимодействие организма с внешним фактором химической, физической или биологической природы. В то же время с помощью биомаркеров можно проводить количественную оценку реакции организма на внешнее воздействие [12]. С целью выделения именно этого аспекта биомаркеров в 2001 г. согласительная комиссия NIH в США определила смысл термина «биомаркер» как показатель (признак), который можно объективно измерить (т.е. количественно охарактеризовать) и который может служить индикатором нормального или патологического течения биологических процессов либо индикатором ответа на фармакологическое или иное вмешательство [11]. Важно подчеркнуть, что по своей сути биомаркер является показателем эндогенного происхождения и служит для оценки динамики изменения состояния живого организма, в отличие от кинетических показателей, характеризующих судьбу то-

*Войтенко Наталья Геннадьевна (Voitenko Natalya Gennadievna)*, канд. биол. наук, старший научн. сотрудник НИИГПЭЧ ФМБА России, ngvoitenko@gmail.com;
*Прокофьева Дарья Станиславовна (Prokofieva Daria Stanislavovna)*, канд. биол. наук, ст. научн. сотрудник НИИГПЭЧ ФМБА России , darija-p1@yandex.ru;
*Гончаров Николай Васильевич (Goncharov Nikolay Vasilievich)*, доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник НИИГПЭЧ ФМБА России, ngoncharov@gmail.com

го или иного химического вещества (как правило, экзогенного происхождения) в организме. Биомаркер продуцируется либо локально больным органом (тканью), либо разными органами (тканями) организма в ответ на заболевание. С помощью биомаркеров можно оценить разные стадии развития заболевания. Перед постановкой диагноза биомаркеры служат для проведения скрининга и оценки риска. При постановке диагноза биомаркеры помогают определить стадию и степень заболевания, назначить адекватную терапию. Наконец, с помощью биомаркеров можно оценить эффективность терапии и ход выздоровления пациента [11].

Развитие науки, появление новых знаний о молекулярных основах жизнедеятельности и, следовательно, появление новых биомаркеров далеко не всегда приводит к упрощению диагностики и мониторинга заболеваний, как это можно было бы ожидать, а зачастую осложняет работу врачей вследствие потери цельного представления о живом организме. В этой ситуации возрастает необходимость поиска интегральных биомаркеров, отражающих взаимодействие разных систем организма и обладающих диагностической значимостью. Парадокс и одновременно проблема заключаются в том, что процесс поиска биомаркеров часто имеет стихийный и бессистемный характер. Если, например, проведение клинических испытаний регламентируется более-менее четко обозначенными тремя стадиями, то поиск биомаркеров основан главным образом на интуиции и личном опыте исследователей [13]. В 2002 г. Национальный институт рака США предпринял попытку регламентирования этого процесса, приняв новый подход к разработке и оценке биомаркеров. Суть его состоит в следующем: предложено 5 стадий обоснования биомаркера и поэтапный переход от одной стадии к другой, по мере выполнения требований (или соответствия критериев) той или иной стадии, предъявляемых к биомаркеру [13, 14]. 1-я стадия – доклинические исследования, идентификация биомаркеров, определение их диагностической и прогностической ценности, ранжирование и комбинирование биомаркеров. 2-я стадия предполагает проведение первичных клинических исследований с оценкой воспроизводимости результатов в разных лабораториях, первичным определением чувствительности и специфичности. 3-я стадия – уточнение параметров чувствительности и специфичности на большой выборке пациентов; это наиболее масштабная и продолжительная по времени стадия исследований, по результатам которых биомаркер может быть рекомендован для использования в клинической практике. 4-я стадия – оценка чувствительности и специфичности биомаркера, а также его прогностической значимости на большой популяции, включающей в себя здоровых и больных людей. Основное отличие от 3-й стадии – необходимость (в случае положительного результата) проведения дополнительных исследований, часто инвазивного характера, для уточнения (верификации) диагноза. Эта стадия практически невыполнима для редких заболеваний. Наконец, на 5-й стадии проводится окончательная оценка всех преимуществ и недостатков нового биомаркера и разработанного для его выявления диагностического метода. Один из критериев – расчет стоимости одной спасенной жизни. Эта стадия также масштабна и длительна по времени, как и 4-я стадия. Для оценки эффективности клинического теста используют количественные характеристики – диагностическую чувствительность, специфичность, прогностическую значимость, отношение правдоподобия и другие.

Идеальный биомаркер обладает высокой чувствительностью, специфичностью и прогностической значимостью, надежно воспроизводится у людей разного пола и разных этнических групп, стоимость его определения невысока, а процедура определения безопасна для здоровья пациентов. Например, золотым стандартом диагностики хронических заболеваний печени в медицинской практике является биопсия печени. Однако методы морфологии не являются распространенным средством клинической диагностики. По причине инвазивности эти методы не пригодны для продолжительного мониторинга. Поиск безопасных, надежных и при этом недорогих методов привел к разработке довольно большого количества биомаркеров для неинвазивной оценки фиброза печени, представляющих собой как простые, непосредственно измеряемые показатели, так и их производные (индексы, соотношения), повышающие чувствительность и/или специфичность оценки (диагноза): отношение АСТ к АЛТ (коэффициент Де Ритиса), отношение АСТ к количеству тромбоцитов, PGA индекс (соотношение протромбинового времени, уровня гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) и аполипопротеина А1; позже PGA индекс был модифицирован за счет альфа-2-макроглобулина и стал именоваться PGAA индексом), фибротест (объединяет альфа-2-макроглобулин, гаптоглобин, ГГТ, аполипопротеин А1 и общий билирубин) [15]. Другим примером нового подхода к решению медицинских проблем, связанных с диагностикой, могут служить работы в области неврологии, связанные с биохимической диагностикой нарушений мозгового кровообращения. Чтобы определить с помощью биохимических критериев тот или иной подтип инсульта, его масштаб, спрогнозировать возможное развитие событий и вероятность летального или благополучного исхода, предпринимались попытки одновременного измерения до 50 показателей, с последующим поиском корреляций между ними. В конечном итоге был определен набор из 4–5 наиболее надежных показателей (маркеров), которые в совокупности обеспечивали чувствительность и специфичность свыше 90% [16–18]. Стратегия этих исследований состоит в том, чтобы объединить чувствительные, но ткане-неспецифичные маркеры как минимум с одним специфичным для ЦНС маркером. Использование неспецифичных маркеров необходимо для того, чтобы повысить чувствительность комплексного тестирования. Биохимическое тестирование имеет неоспоримое преимущество перед другими сложными инструментальными методами диагностики, которое авторы одного из этих исследований справедливо считают основополагающим – возможность выполнения «в полевых условиях», т.е. в местах оказания первой помощи [18]. К сожалению, примеров такого комплексного подхода ничтожно мало, в современной науке много внимания уделяется поиску новых единичных маркеров, которые бы отличались и чувствительностью, и специфичностью. Если даже в исследовании такой распространенной патологии, как ишемия головного мозга, до сих пор существует проблема диагностики критических состояний и критериев эффектив-

ности терапии, то в токсикологии аналогичные проблемы намного сложнее, они гораздо менее изучены.

Используемые в настоящее время биомаркеры интоксикации ФОС – ацетилхолинэстераза (АХЭ), бутирилхолинэстераза (БХЭ) – специфичны лишь в ранние сроки интоксикации, хотя число работ по определению чувствительности, специфичности и прогностической значимости этих показателей весьма ограничено. Так, в работе [19] продемонстрировано, что данные об активности сыворотки по ацетилтиохолину в ранние сроки острой интоксикации могут быть использованы для прогнозирования продолжительности пребывания пострадавших в отделении интенсивной терапии и продолжительности ИВЛ (чувствительность и специфичность более 80%). Между тем далеко не для всех ФОС прослеживается строгая корреляция степени ингибирования холинэстераз, в частности АХЭ, со степенью интоксикации, что снижает диагностическую значимость этих биомаркеров. Так, при одинаковой степени ингибирования АХЭ у крыс паратион для них более токсичен по сравнению с хлорпирифосом [20]. С другой стороны, наличие токсических признаков может и не сопровождаться ингибированием холинэстераз. Например, у рабочих, занятых в производстве хлорофоса, было отмечено снижение памяти, способности к обучению, бдительности и моторной реакции, хотя уровень активности АХЭ в крови был такой же, как в группе контроля [21]. Таким образом, уровень активности холинэстераз далеко не всегда снижается при хронической интоксикации малыми дозами ФОС, а значит, не может в ряде случаев служить надежным биомаркером интоксикации [22, 23]. Справедливости ради отметим исследования, свидетельствующие о снижении активности холинэстераз при длительном контакте с ФОС [24–29]. При этом отмечают, что уровень активность холинэстераз довольно быстро восстанавливается после прекращения контакта с ФОС [30].

Из нехолинэстеразных токсикодинамических показателей интоксикации органофосфатами наиболее известными являются маркеры поражения печени и почек: АСТ, АЛТ, ГГТ, ЛДГ, креатинин и мочевина сыворотки крови [31–39]. Также отмечено повышение уровня неорганического фосфора у людей, подверженных хронической интоксикации фосфорорганическими пестицидами [35, 40]. Среди других неспецифических маркеров интоксикации органофосфатами наиболее часто отмечают показатели окислительного стресса: повышение уровня МДА и общего оксидантного статуса (TOS) [41–46]. Иногда эти показатели дополняют данными о повреждении ДНК свободными радикалами, что может быть сопряжено с канцерогенными эффектами ФОС [44, 47–50].

Несмотря на многочисленные данные литературы в отношении физиолого-биохимических и иммунореактивных эффектов ФОС, существует целый ряд нерешенных проблем, связанных с диагностикой отравлений ФОС, особенно это справедливо для диагностики подострой и хронической интоксикации. Одна из таких проблем сопряжена со смешением представлений о контакте с токсическим агентом (при этом неважно, какое количество органофосфатов попало в организм) и состоянием интоксикации, для развития которой требуется определенное количество и/или продолжительность воздействия химического фактора. Другая важная проблема – сопоставление истории болезни с анамнезом жизни. Многие возрастные изменения, особенности питания, режима, хронические или острые инфекционные заболевания сопровождаются неспецифическими изменениями спектра биохимических показателей, в том числе активности холинэстераз крови. Активность холинэстераз высоко вариабельна, зависит от воздействия различных экзогенных факторов и изменяется при патологии, не имеющей отношения к ФОС-интоксикации [51]. Без должного анализа и понимания причинно-следственных связей такие изменения могут быть ошибочно интерпретированы как специфические показатели интоксикации органофосфатами.

Решением проблемы могло бы стать совместное применение высокоспецифичных химико-аналитических методов и токсикодинамических показателей в составе единого диагностического комплекса, что позволит не только установить «факт воздействия», но и определить тяжесть последствий перенесенного отравления, а также помочь врачу подобрать адекватные средства коррекции установленных нарушений. В случае реальной интоксикации имеет место комплекс изменений биомаркеров, каждый из которых может укладываться в норму, но их совокупность, выраженная в виде соотношения ряда показателей (индекса, производного или интегрального биомаркера), может значительно повысить чувствительность диагностики. Логично предположить, что такие «комплексные» биомаркеры (или комплекс биомаркеров как единая основа постановки диагноза болезни в соответствии со стандартной диагностической классификацией, например, МКБ – международной классификацией болезней) обладают большим диагностическим потенциалом (чувствительностью, специфичностью и прогностической значимостью) по сравнению с отдельными тестами.

Развитие молекулярной медицины и разработка новых биомаркеров, их сочетаний и соотношений, обоснованных по всем правилам доказательной медицины, постепенно преобразует медицину как науку [13]. Дальнейшее развитие диагностики отравлений органофосфатами должно идти по пути создания комплексных биомаркеров, включающих наряду со специфическими химическими маркерами (например, аддуктами), параметры, характеризующие токсикодинамический ответ организма (биохимические показатели, цитокиновый профиль).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** *Pope C. Karanth S., Liu J.* Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: uses and misuses of a common mechanism of action. Environ. Toxicol. Pharmacol. 2005; 19 (3): 433–46.

**2.** *Lotti M.* Organophosphorus compounds. In: Spencer P.S, Schaumburg H.H, Ludolph A.C. eds. Experimental and Clinical Neurotoxicology. Oxford: Oxford University Press; 2000: 898–925.

**3.** *Lotti M.* Clinical toxicology of anticholinesterase agents in humans. In: Handbook of Pesticide Toxicology. San Diego: Academic Press; 2001:1043–85.

**4.** *Worek F. Koller M., Thiermann H., Szinicz L.* Diagnostic aspects of organophosphate poisoning. Toxicology. 2005; 214 (3): 182–189.

**5.** *Radilov A., Rembovskiy V., Rybalchenko I., Savelieva E., Podolskaya E., Babakov V. et al.* Russian VX. In: Gupta R.C. ed. Handbook of the Toxicology of Chemical Warfare Agents. Oxford: Elsevier Inc.; 2009: 69-91.

**6.** *Black R.M., Harrison J.M., Read R.W.* The interaction of sarin and soman with plasma proteins: the identification of a novel phosphonylation site. Arch. Toxicol. 1999; 73: 123–126.

**7.** *Williams N.H. Harrison J.M., Read R.W., Black R.M.* Phosphylated tyrosine in albumin as a biomarker of exposure to organophosphorus nerve agents. Arch. Toxicol. 2007; 81:627–639.

**8.** *Li B. Nachon F., Froment M.-T., Verdier L., Debouzy J.-C., Brasme B., Gillon E. et al.* Binding and hydrolysis of soman by human serum albumin. Chem. Res. Toxicol. 2008; 21: 421–431.

**9.** *John H., Breyer F., Thumfart J.O., Höchstetter H., Thiermann T.* Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for detection and identification of albumin phosphylation by organophosphorus pesticides and G- and V-type nerve agents. Anal. Bioanal. Chem. 2010; 398: 2677–2691.

**10.** *Read R.W., Riches J.R., Stevens J.A., Stubbs S.J., Black R.M.* Biomarkers of organophosphorus nerve agent exposure: comparison of phosphylated butyrylcholinesterase and phosphylated albumin after oxime therapy. Arch. Toxicol. 2010; 84 (1): 25–36.

**11.** *Atkinson A.J., Colburn W.A., De Gruttola V.G., DeMets D.L., Downing G.J., Hoth D.F. et al.* Biomarker and surrogate endpoints: preferred definition and conceptual framework. Clin. Pharmacol. Ther. 2001; 69: 89–95.

**12.** WHO 1993. Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Geneva:World Health Organization.

**13.** *Kumar M., Sarin S.K.* Biomarkers of diseases in medicine. In: Mukunda N. ed. Current Trends in Science–Platinum Jubilee Special. 2009; Indian Academy of Sciences. Avaible at: http://www.ias.ac.in/academy/pjubilee/book.html

**14.** *Pepe M.S. Etzioni R., Feng Z., Potter J.D., Thompson M.L., Thornquist M.et al.* Phases of biomarker development for early detection of cancer. J. Natl. Cancer Inst. 2001; 93 (14): 1054–1061.

**15.** *Rockey D.C., Bissell D.M.* Noninvasive measures of liver fibrosis. Hepatology. 2006; 43: 113–120.

**16.** *Lynch J. R., Blessing R., White W. D., Grocott H. P., Newman M. F., Laskowitz D.T. et al.* Novel Diagnostic Test for Acute Stroke. Stroke. 2004; 35: 57–63.

**17.** *Reynolds M.A. Kirchick H.J., Dahlen J.R., Anderberg J.M., McPherson P.H., Nakamura K.K. et al.* Early Biomarkers of Stroke. Clinical Chemistry. 2003; 49 (10): 1733–1739.

**18.** *Laskowitz D.T., Kasner S.E., Saver J., Remmel K.S., Jauch E.C.* Clinical Usefulness of a Biomarker-Based Diagnostic Test for Acute Stroke The Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) Study. Stroke. 2009; 40: 77–85.

**19.** *Manu M.S., Prashant V., Akila P., Suma M.N., Basavanagowdappa H. A.* Retrospective Analysis of Serial Measurement of Serum Cholinesterase in Acute Poisoning with Organophosphate Compounds. Toxicol. Int. 2012; 19 (3): 255–259.

**20.** *Pope C.N.* Organophosphorus pesticides: do they all have the same mechanism of toxicity? J. Toxicol. Environ. Health. 1999; 2 (2): 161–181.

**21.** *Srivastava A.K., Gupta B.N., Bihari V., Mathur N., Srivastava L.P., Pangtey B.S. et al.* Clinical, biochemical and neurobehavioural studies of workers engaged in the manufacture of quinalphos. Food Chem. Toxicol. 2000; 38: 65–69.

**22.** *Singh S., Sharma N.* Neurological syndromes following organophosphate poisoning. Neurology India. 2000; 48 (4): 308–313.

**23.** *Salvi R.M. Lara D.R., Ghisolfi E.S., Portela L.V. Dias R.D., Souza D.O.* Neuropsychiatric Evaluation in Subjects Chronically Exposed to Organophosphate Pesticides. Toxicol. Sci. 2003; 72 (2): 267–271.

**24.** *Amitai G., Moorad D., Adani R., Doctor B.P.* Inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase by chlorpyrifos-oxon. Biochemical. Pharmacol. 1998; 56 (3): 293–299.

**25.** *Karabay N.U., Çakmak B., Sayim F., Oğuz M.G.* Risk Assessment Of Organophosphate Pesticide Exposure On Greenhouse Workers In Menderes Region, Develi Village (Turkey). Turkiye Klinikleri J. Med. Sci. 2004; 24: 6–11.

**26.** *Gertrudis C., Valenzuela M., Vilaxa A., Durán V., Rudolph I., Hrepic N. et al.* A rat mammary tumor model induced by the organophosphorus pesticides parathion and Malathion, possibly through acetyl cholinesterase inhibition. Environ. Health. Perspec. Pect. 2001; 109 (5): 211–221.

**27.** *Hernández A., Gómez M.A., Pena G., Gil F., Rodrigo L., Villanueva E. et al.* Effect of long-term exposure to pesticides on plasma esterases from plastic greenhouse workers. J. Toxicol. Environ. Health. 2004; 67 (14): 1095–1108.

**28.** *Smit L.A.M. van-Wendel-de-Joode B.N., Heederik D., Peiris-John R.J., van der Hoek W. et al.* Neurological symptoms among Sri Lankan farmers occupationally exposed to acetylcholinesterase-inhibiting insecticides. Am. J. Ind. Med. 2003; 44 (3): 254–64.

**29.** *Bhalli J.A., Khan Q.M., Haq M.A., Khalid A.M., Nasim A.* Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. Mutagenesis. 2006; 21 (2): 143–148.

**30.** *Mason H. J.* The recovery of plasma cholinesterase and erythrocyte acetylcholinesterase activity in workers after over-exposure to dichlorvos. Occup. Med. 2000; 50 (5): 343-7.

**31.** *Misra U.K., Nag D., Bhushan V., Ray P.K.* Clinical and biochemical changes in chronically exposed organophosphate workers. Toxicol. Lett. 1985; 24: 187–193.

**32.** *Carvalho W.A.* Risk factors related with occupational and environmental exposure organochlorine insecticides in the state of Bahia, Brazil. Bol. Oficina. Sanit. Panam. 1991; 111: 512–524.

**33.** *El-Demerdash F.M., Yousef M.I., Elagamy E.I.* Influence of paraquat, glyphosate, and cadmium on the activity of some serum enzymes and protein electrophoretic behavior (in vitro). J. Environ. Sci. Health. 2001; 36: 29–42.

**34.** *Michalek J.E., Ketchum N.S., Longnecker M.P.* Serum dioxin and hepatic abnormalities in veteran of operation Ranch Hand. Ann. Epidemiol. 2001; 11 (5): 304–311.

**35.** *Hernández A.F., Gomez M.A., Perez V., Garcia-Lario J.V., Pena G., Gil F. et al.* Influence of exposure to pesticides on serum components and enzyme activities of cytotoxicity among intensive agriculture farmers. Environ. Res. 2006; 102 (1): 70–76.

**36.** *Azmi M.A., Naqvi S.N.H., Azmi M.A., Aslam M.* Effect of pesticide residues on health and different enzyme levels in the blood of farm workers from Gadap (rural area) Karachi-Pakistan. Chemosphere. 2006; 64 (10): 1739–1744.

**37.** *Kossmann S., Tustanowski J., Kołodziej B.* Renal dysfunction in chemical plant workers producing dust pesticides. Med. Pr. 2001; 52 (4): 253–256.

**38.** *Al-Qarawi A.A., Adam S.E.* Effects of malathion plus superphosphate or urea on Najdi sheep. Vet. Hum. Toxicol. 2003; 45 (1): 3–6.

**39.** *Attia M. A.* Risk assessment of occupational exposure to pesticides. Earth. Environ. Sci. 2006; 3: 349–362.

**40.** *Parrón T., Hernandez A.F., Pla A., Villanueva E.* Clinical and biochemical changes in greenhouse sprayers chronically exposed to pesticides. Hum. Exp. Toxicol. 1996; 15 (12): 957–963.

**41.** *Bagchi D., Bagchi M., Hassoun E.A., Stohs S.J.* In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. Toxicol. 1995; 104: 3129–3140.

**42.** *Prakasam A., Sethupathy S., Lalitha S.* Plasma and RBCs antioxidant status in occupational male pesticide sprayers. Clinica. Chimica. Acta. 2001; 310: 107–112.

**43.** *Hsu D.Z., Hsu C.H., Huang B.M., Liu M.Y.* Abamectin effects on aspartate aminotransferase and nitric oxide in rats. Toxicol. 2001; 165:189–193.

**44.** *Abdollahi M., Mostafalou S., Pournourmohammadi S., Shadnia S.* Oxidative stress and cholinesterase inhabitation in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. Comp. Biochem. Physiol. 2004; 137: 29–34.

**45.** *Singh V.K., Reddy M.M., Kesavachandran C., Rastogi S.K., Siddiqui M.K.* Biomonitoring of organochlorines, glutathione, lipid peroxidation and cholinesterase activity among pesticide sprayers in mango orchards. Clin. Chim. Acta. 2007; 377(1–2): 268–72.

**46.** *Muniz J.F., McCauley L., Scherer J., Lasarev M., Koshy M., Kow Y.W. et al.* Biomarkers of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: a pilot study. Toxicol. Appl. Pharmacol. 2008; 227 (1): 97–107.

**47.** *Hazarika A., Sarkar S.N., Hajare S., Kataria M., Malik J.K.* Influence of malathion pretreatment and

the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study. Toxicol. 2003; 185: 1–8.
**48.** *Vidyasagar J., Karunakar N., Reddy M.S., Rajnarayana K., Surender T., Krishna D.R.* Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorous insecticide poisoning. Ind. J. Pharmacol. 2004; 36: 76–79.
**49.** *Shadnia S., Azizi E., Hosseini R., Khoei S., Fouladdel S., Pajoumand A. et al.* Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. Hum. Exp. Toxicol. 2005; 24 (9): 439–445.
**50.** *Mansour S.A.* Pesticide exposure-Egyptian scene. Toxicol. 2004; 198 (1–3): 91–115.
**51.** *Costa L.G.* Biomarker research in neurotoxicology: The role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations. Envor. Health Persp. 1996; 104 (1): 55–67.

*N.G. Voitenko, D.S. Prokofieva, N.V. Goncharov*

**Issues of diagnostics of intoxications with organophosphorous compounds**

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology (RIHOPHE), 188663, St Petersburg, Russian Federation

The survey is dedicated to issues of searching for and using biomarkers in diagnostics of different diseases underscoring their complicated use in toxicology, particularly in toxicology of organophosphorous compounds. Investigation stages in searching biomarkers are described as well as general principles of assessment of their diagnostic significance. Approaches to the diagnostics of intoxications with organophosphorous compounds are featured and ways of increasing the effectiveness of biomarkers search for the diagnosis of organophosphorous intoxications are suggested.

***Key words:*** *biomarker, diagnostics, organophospforous compounds.*

Материал поступил в редакцию 16.05.2013 г.

**УДК 615.9**

# ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ В ХАНТЫ-МАНСИЙСКОМ АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ – ЮГРЕ

*Б.Б. Яцинюк*

*Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, 268011, г. Ханты-Мансийск*

Проведенный анализ острых отравлений на территории ХМАО – Югры за 2007–2011 гг. позволил оценить динамику и структуру острых отравлений. Ретроспективный анализ охватывает 8777 случаев отравлений у взрослых и детей. Анализ выявил тенденцию к увеличению числа острой химической травмы с увеличением доли острых отравлений у детей и преобладанием преднамеренных отравлений, наибольшей летальностью в группе отравлений алкоголем, наркотиками и другими психотропными средствами и смертностью в тех же группах и в группе отравлений угарным газом.

***Ключевые слова:*** *эпидемиология, отравления.*

**Введение.** Совершенствованная за последние десятилетие система специализированной токсикологической помощи требует дальнейшей реорганизации, введения порядка ее оказания, подготовки специалистов клинического звена и токсико-химической диагностики [8]. Принятие определенных решений улучшения оказания данной медицинской помощи Министерством здравоохранения на территории РФ невозможно без анализа эпидемиологической

*Яцинюк Борис Борисович (Yatsinuk Boris Borisovich*), зав. курсом реанимации, интенсивной терапии и экстремальной медицины Ханты-Мансийской государственной медицинской академии, к.м.н., доцент. tocsboris@yandex.ru

обстановки на всех территориях Федерации, которая позволит поднять проблему острой химической травмы на новый уровень, еще более актуализируя ее в условиях увеличения и накопления в промышленности и быту химически опасных веществ [4].

Как отмечает С. И. Спектор (2005), Ю.Н. Остапенко и соавт. (2008), Б.А. Курляндский (2010), В.П. Нужный (2010), в России острые отравления химической этиологии являются ведущими неинфекционными заболеваниями, приводящими к преждевременной смерти [3, 6, 7, 8]. По числу смертельных исходов химические отравления стоят на первом месте и опережают показатели смертности при других заболеваниях [7, 8]. По данным Е.А. Лужникова и Г.И. Суходоловой (2008), распространенность острых отравлений химической этиологии в различных регионах России находится в пределах 0,8–2,2 на 1 тыс. населения [4]. Система специализированной медицинской помощи при острых отравлениях охватывает не более 50% населения [9], и это особенно понятно в территориальных образованиях, как в центральных регионах России, так и на отдаленных территориях, когда действующий Приказ № 9 Минздрава (2002) не позволяет в полной мере в связи с его не утверждением в Минюсте РФ, носить не рекомендательный, а обязательный характер. Оптимизация диагностической, лечебной и наиболее актуальной профилактической помощи требует определенных капиталовложений, без которых невозможно развитие любой отрасли [3]. В настоящий момент на региональном уровне оказание токсикологической помощи возложено преимущественно на токсикологические центры, которые не во всех регионах имеют информационно-консультативную службу и помощь данной категории больных осуществляется в отделениях реанимации и интенсивной терапии для больных нетоксикологического профиля или в профильных отделениях (терапевтических, педиатрических и т.д.), врачи которых не имеют порой даже тематического усовершенствования по токсикологии. Учитывая опубликованные данные по подготовке специалистов [2] и ФГОС 3-го поколения, в котором токсикологии, и в том числе клинической токсикологии, отводится крайне малое количество часов, еще актуальнее встает вопрос о последипломной подготовке по токсикологии.

Каждая территория в РФ имеет свои особенности по месту расположения, населенности и труднодоступности населенных пунктов в определенный климатический период. Ханты-Мансийский автономный округ – Югра – расположен в пределах Западно-Сибирской равнины в высокоширотной области, с резко континентальными условиями климата, суровой продолжительной зимой, теплым, но коротким летом, ранними осенними и поздними весенними заморозками. Особенностью данной территории является значительная площадь (537,8 тыс. кв. км) при наличии наиболее крупных городов Сургут, Нижневартовск с населением 317 и 260 тыс. жителей и Нефтеюганск, Ханты-Мансийск, Когалым, Нягань, Урай – 124, 82, 59 и 57 тыс. жителей соответственно [10, 12]. Остро ощущается отдаленность населенных пунктов, что в данных климатических условиях позволяет рассматривать проблему оказания любой неотложной медицинской помощи исходя из этих позиций.

**Материалы и методы исследования.** Данный анализ острых отравлений на территории ХМАО – Югры является первой попыткой изучения эпидемиологии острой химической травмы в промышленном нефтедобывающем и перерабатывающем Северном регионе за 2007–2011 гг. и позволяет оценить закономерности структуры отравлений. Ретроспективный анализ эпидемиологии острых отравлений базируется на отчетах (Приложение № 6 к приказу Министерства здравоохранения РФ от 8 января 2002 г. № 9) Департамента здравоохранения округа, который охватывает 8777 случаев отравлений у взрослых и детей. Среднее количество населения за 2007–2011 гг. составило 1551,4198 тыс. человек.

**Результаты и обсуждение.** В 2007 г. заболеваемость острой химической травмой составила 0,99 человек на 1 тыс. населения (табл. 1), с преобладанием заболеваемости городского населения – 0,82. Динамика заболеваемости городского, сельского населения, по полу и возрасту

*Таблица 1*

**Динамика заболеваемости острыми отравлениями городского и сельского населения по полу и возрасту в ХМАО – Югре (2007–2011 гг.)**

| Год | Городское население | Сельское население | Мужчины/ женщины | Детей/ взрослые | Общая заболеваемость |
|---|---|---|---|---|---|
| 2007 | 1239 | 255 | 920/574 | 224/1270 | 1494 |
| 2008 | 1495 | 169 | 1078/586 | 312/1352 | 1664 |
| 2009 | 1701 | 109 | 1107/703 | 365/1445 | 1810 |
| 2010 | 1639 | 274 | 1216/697 | 452/1461 | 1913 |
| 2011 | 1509 | 387 | 1088/808 | 497/1402 | 1896 |
| Всего | 7583 | 1194 | 5409/3368 | 1850/6930 | 8777 |

*Таблица 2*

**Сравнительная характеристика структуры ведущих по территории острых отравлений и показателей летальности (2007–2009 гг.)**

| Токсические веществава | 2007 | | | | 2008 | | | | 2009 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | кол-во больных | | летальность | | кол-во больных | | летальность | | кол-во больных | | летальность | |
| | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % |
| Т36–39,42, 44–50 | 320 | 21,5 | 3 | 6,9 | 477 | 28,6 | 9 | 12,1 | 616 | 34,0 | 3 | 3,8 |
| Т51 | 708 | 47,3 | 14 | 31,9 | 717 | 43,1 | 38 | 51,3 | 781 | 43,1 | 48 | 60,8 |
| Т52, 53 | 7 | 0,4 | 1 | 2,2 | 18 | 1,0 | – | – | 17 | 1,0 | - | - |
| Т54 | 115 | 7,6 | 9 | 20,4 | 101 | 6,0 | 3 | 4,05 | 77 | 4,3 | 12 | 15,1 |
| Т40, 43 | 112 | 7,4 | 13 | 29,6 | 166 | 10,0 | 3 | 4,05 | 159 | 8,8 | 8 | 10,1 |
| Т58, 59 | 31 | 2,1 | – | – | 49 | 3,0 | 6 | 8,2 | 37 | 2,0 | 7 | 8,8 |
| Т63 | 11 | 0,7 | – | – | 20 | 1,3 | – | – | 20 | 1,1 | – | – |
| Т61, 62 | 4 | 0,3 | – | – | 9 | 0,5 | – | – | 7 | 0,4 | – | – |
| Т56 | 5 | 0,3 | 2 | 4,5 | 12 | 0,7 | – | – | 4 | 0,2 | – | – |
| Т57 | 9 | 0,6 | – | – | 1 | 0,06 | – | – | 9 | 0,5 | – | – |
| Т60 | 1 | 0,06 | – | – | 5 | 0,3 | 1 | 1,3 | 10 | 0,5 | – | – |
| Т65 | 171 | 11,5 | 2 | 4,5 | 89 | 5,4 | 14 | 19,0 | 73 | 4,1 | 1 | 1,3 |
| Отравлений всего | 1494 | 100 | 44 | 100 | 1664 | 100 | 74 | 100 | 1810 | 100 | 79 | 100 |

в исследуемый период представлена в табл. 1. Как видно из табл. 1, наибольшее число заболеваний острой химической травмой в округе приходится на 2010 г. Наибольший процент изменения показателя наблюдается в 2008 г. – на 10,21% по отношению к 2007 г., с последующим увеличением в среднем за 2009–2011 г от 2,30 до 8,06%. Динамика заболеваемости в округе за 2007–2011 гг. позволяет констатировать увеличение числа острых отравлений в 2011 г. по отношению к 2007 г. на 21,20%. Заболеваемость в округе за 5 лет составила 1,12 ± 0,04 на 1 тыс. населения. Заболеваемость городского населения в среднем за изучаемый период составила 0,97 ± 0,05, сельского – 0,14 ± 0,03, взрослого и детского населения – 0,88 ± 0,01 и 0,23 ± 0,03 на 1 тыс. населения. Заболеваемость детского населения возросла в 2011 г. по отношению к 2007 г. на 54,9%.

Острые отравления медикаментами и биологическими веществами (Т36–Т50) в структуре отравлений за исследуемый период составили 3627 случаев (41,3%), в среднем составляя 0,46 случая на 1 тыс. населения, веществами преимущественно немедицинского назначения (Т51–Т65) – 5150 случаев (58,6%), в среднем составляя 0,66 случая на 1 тыс. населения. Анализируя динамику в группах, необходимо отметить, что в 2007 г в группе Т36 – Т50 заболеваемость составила 0,36 на 1 тыс. населения, а в группе Т51–Т65 – 0,62, а в 2011 г. – 0,54 и 0,67 соответственно. Таким образом, в данный период имеется наиболее выраженная тенденция к увеличению отравления медикаментами и биологическими веществами.

Динамика структуры острых химических отравлений в зависимости от причин показывает преобладание преднамеренных отравлений, которые в среднем за период составили 74,02%. Сравнительная характеристика структуры ведущих на территории острых отравлений и показателей летальности (2007–2011 гг.) представлена в табл. 2. Из табл. 2 видно, что количество больных с острыми отравлениями алкоголем (этиловым и другими спиртами, Т51) составило 3563 случая, медикаментами (Т36–39,42, 44–50) – 2344, прижигающими жидкостями (Т54) – 511, наркотиками и

*Таблица 2 (окончание)*

**Сравнительная характеристика структуры ведущих по территории острых отравлений и показателей летальности (2010–2011 гг.)**

| Токсические в-ва | 2010 | | | | 2011 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | кол-во больных | | леталь ность | | кол-во больных | | летальность | |
| | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % |
| T36–39,42, 44–50 | 469 | 24,5 | 3 | 7,0 | 512 | 27,0 | 4 | 6,5 |
| T51 | 777 | 40,6 | 28 | 65,1 | 580 | 30,6 | 21 | 34,4 |
| T52, 53 | 34 | 1,8 | 1 | 2,3 | 29 | 1,6 | 9 | 14,7 |
| T54 | 117 | 6,2 | 7 | 16,3 | 101 | 5,3 | 7 | 11,4 |
| T40, 43 | 194 | 10,1 | 3 | 7,0 | 364 | 19,1 | 14 | 23,0 |
| T58, 59 | 85 | 4,4 | 1 | 2,3 | 103 | 5,4 | 3 | 5,0 |
| T63 | 16 | 0,8 | – | – | 100 | 5,3 | – | – |
| T61, 62 | 21 | 1,2 | – | – | 19 | 1,1 | – | – |
| T56 | 2 | 0,1 | – | – | 4 | 0,2 | – | – |
| T57 | 16 | 0,8 | – | – | 15 | 0,8 | – | – |
| T60 | 3 | 0,1 | – | – | 3 | 0,1 | – | – |
| T65 | 179 | 9,4 | – | – | 66 | 3,5 | 3 | 5,0 |
| Отравлений всего | 1913 | 100 | 43 | 100 | 1896 | 100 | 61 | 100 |

Примечание. В табл. 2, 3, 4 абсолютные числа и % в структуре отравлений (общий и в нозологической группе).

психодислептиками, психостимуляторами и другими психотропными средствами (без учета клозапина – T40,43) – 995, газами, дымами и парами (с преобладанием угарного газа – T58,59) – 305, токсический эффект от контакта с ядовитыми животными (с преобладанием змей – T63) – 167, органическими растворителями, галогенпроизводных ароматических и неароматических углеводородов (T52,53) – 105, ядов, содержащихся в съеденных пищевых продуктах (T61, 62) – 60, металлами (T56) – 27, другими неорганическими веществами (T57) – 50, пестицидами (T60) – 22 случая.

Для данного периода характерен рост процентного содержания больных с отравлениями медикаментами – с 320 случаев в 2007 г (21,5%) до 512 (27,0%) в 2011 г. и снижение острых отравлений алкоголем (этиловым и другими спиртами) с 708 случаев (47,3%) до 580 (30,5%) в 2011 г. Количество больных с острыми отравлениями прижигающими ядами оставалась в пределах не более 7,6%, а больных с острыми отравлениями наркотиками и психодислептиками, психостимуляторами и другими психотропными средствами увеличилось в 2011 г. на 61,2% по сравнению с 2007 г. Также увеличилось число больных с отравлением газами, дымами и парами (с преобладанием угарного газа) и острыми отравлениями органическими растворителями, галогенпроизводными ароматическими и неароматическими углеводородами на 69,9 и 75,8% соответственно по отношению к 2007 г. Имеет место увеличение за пять лет токсического эффекта от контакта с ядовитыми животными (преимущественно змеями) на 89%.

В структуре острых отравлений медикаментами (табл. 3) отравления ацетилсалициловой кислотой составили в среднем за анализируемый период 1,8%, анальгетиками 5,3%, парацетамолом 1,9%, амитриптилином 5,2%, фенотиазиновыми нейролептиками 3,6%, клозапином 1,8%, препаратами системного и гематологического действия 5,2%, противосудорожными, седативными и снотворными и противопаркинсоническими препаратами 19,7%, препа-

ратами, влияющими на вегетативную нервную систему, 5,7%, средствами, действующими на сердечно-сосудистую систему, 13,2%. Необходимо отметить, что увеличение числа острых отравлений в последней нозологической группе (Т46) за пять лет составило 21,2%. Учитывая актуальность отравлений препаратами под кодом Т46 в группе медикаментозных отравлений [4, 11, 13], увеличение доли в структуре химической травмы как в России, так и за рубежом [5] выраженных нарушений кардио- и гемодинамики, вызываемых данными препаратами [1, 4, 11] и не всегда отраженной ее структурой в публикациях [14, 15], был проведен анализ структуры отравлений в группе препаратов, действующих на сердечно-сосудистую систему (табл. 4). Как видно из табл. 4. острые отравления данными препаратами составили 317 случаев за 5 лет. Из них отравления препаратами гипотензивного действия 37,0%, клофелином 15,7%, препаратами регулирующие сердечный ритм 15,2%, коронарными и др. сосудорасширяющими средствами 13,8%, сердечными гликозидами 5,3% и другими 13%.

Одной из актуальных, на сегодняшний день проблемой является увеличение острых отравлений наркотиками и психодислептиками, психостимуляторами и другими психотропными средствами, которые, как правило, возникают на фоне длительной интоксикации, тем самым усугубляя

*Таблица 3*

**Структура острых медикаментозных отравлений (2007–2011 гг.)**

| Токсические вещества | 2007 | | 2008 | | 2009 | | 2010 | | 2011 | | Итого | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % |
| Ацетилсалициловая кислота | 6 | 1,9 | 11 | 2,3 | 6 | 1,0 | 7 | 1,4 | 13 | 2,5 | 43 | 1,8 |
| Анальгетики | 15 | 4,7 | 24 | 5,0 | 23 | 3,8 | 36 | 7,7 | 27 | 5,1 | 125 | 5,3 |
| Парацетамол | 5 | 1,6 | 9 | 1,8 | 14 | 2,3 | 7 | 1,5 | 10 | 1,9 | 45 | 1,9 |
| Амитриптилин | 21 | 6,5 | 27 | 5,7 | 39 | 6,3 | 19 | 4,1 | 18 | 3,6 | 124 | 5,2 |
| Фенотиазины | 20 | 6,3 | 16 | 3,4 | 15 | 2,4 | 22 | 4,6 | 15 | 2,9 | 88 | 3,6 |
| Клозапин | 6 | 1,8 | 5 | 1,1 | 12 | 1,9 | 10 | 2,1 | 9 | 1,8 | 42 | 1,8 |
| Системного и гематологического действия, в т. ч. | **7** | 2,2 | **24** | 5,0 | **33** | 5,3 | **33** | 7,1 | **27** | 5,2 | **124** | 5,2 |
| противоаллергические | 7 | 2,2 | 24 | 5,0 | 22 | 3,3 | 15 | 3,1 | 15 | 2,9 | 83 | 3,4 |
| Противосудорожные, седативные, снотворные и противопаркинсонические, в т.ч. | **52** | 16,3 | **91** | 19,0 | **154** | 25,1 | **80** | 17,1 | **94** | 18,3 | **471** | 19,7 |
| Барбитураты | 19 | 6,0 | 34 | 7,2 | 24 | 3,8 | 11 | 2,3 | 22 | 4,2 | 110 | 4,6 |
| Бензодиазепины | 26 | 8,2 | 29 | 6,1 | 40 | 6,4 | 18 | 3,8 | 33 | 6,4 | 146 | 6,1 |
| Средствами, действующими на сердечно-сосудистую систему | 67 | 21,0 | 58 | 12,2 | 68 | 11,1 | 72 | 15,3 | 52 | 10,2 | 317 | 13,2 |
| Препараты, влияющие на вегетативную нервную систему | 25 | 7,7 | 19 | 4,0 | 33 | 5,3 | 20 | 4,3 | 39 | 7,7 | 136 | 5,7 |
| Прочие медикаменты | 96 | 30,0 | 193 | 40,5 | 219 | 35,6 | 163 | 34,8 | 208 | 40,6 | 879 | 36,7 |
| Итого | 320 | 100 | 477 | 100 | 616 | 100 | 469 | 100 | 512 | 100 | 2394 | 100 |

*Таблица 4*

**Структура острых отравлений средствами, действующими на сердечно-сосудистую систему (2007–2011 гг.)**

| Токсические вещества | 2007 | | 2008 | | 2009 | | 2010 | | 2011 | | Итого | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % | аб | % |
| Средства, действующие на сердечно-сосудистую систему, из них | 67 | 21,0 | 58 | 12,2 | 68 | 11,1 | 72 | 15,3 | 52 | 10,2 | 317 | 13,2 |
| препараты, регулирующие сердечный ритм | 16 | 23,9 | 4 | 6,8 | 17 | 25,0 | 8 | 11,2 | 3 | 5,8 | 48 | 15,2 |
| сердечные гликозиды | 3 | 4,5 | 6 | 10,4 | 2 | 3,0 | 3 | 4,2 | 3 | 5,8 | 17 | 5,3 |
| коронарные и др. сосудорасширяющие средства | 7 | 10,3 | 11 | 19,0 | 13 | 19,2 | 6 | 8,4 | 7 | 13,4 | 44 | 13,8 |
| гипотензивные средства, в т.ч | 16 | 24,9 | 27 | 46,6 | 22 | 32,3 | 33 | 45,8 | 19 | 36,5 | 117 | 37,0 |
| клофелин (гемитон) | 8 | 11,0 | 10 | 17,2 | 14 | 20,5 | 15 | 20,7 | 3 | 5,8 | 50 | 15,7 |
| другие | 17 | 25,4 | – | – | – | – | 7 | 9,7 | 17 | 32,7 | 41 | 13 |

тяжесть отравления и число смертельных исходов трудоспособного населения [5]. В группе отравлений наркотиками и психодислептиками наблюдается рост числа отравлений за 5 лет на 71,9%, в группе отравлений психотропными средствами на 78,8%. Обращает внимание снижение острых отравлений героином в 2011 г. на 97,2% по отношению к 2007 г. и выраженный рост отравлений психодислептиками на 95,0%, психотропными средствами на 78,8%.

Как видно из табл. 2, в течение 2007–2011 гг. в лечебных учреждениях округа погиб 301 больной, госпитальная летальность в среднем за исследуемый период составила 3,43 ± 0,47% и 0,038 ± 0,005 случая на 1 тыс. населения. Летальность при острых отравлениях медикаментами за данный период составила в среднем 7,2% (0,014 на 1 тыс. населения), алкоголем (этиловым и другими спиртами) 48,67% (0,096), органическими растворителями, галогенпроизводных ароматических и неароматических углеводородов 3,84% (0,007), прижигающими ядами 13,41% (0,024), наркотиками и психодислептиками, психостимуляторами и другими психотропными средствами 14,69% (0,026). Таким образом, наибольшее число летальных исходов отмечается в группе отравлений алкоголем.

Общая смертность при острых отравлениях по нозологическим группам складывается из данных Бюро судебно-медицинской экспертизы. В ХМАО – Югре (2007–2011 гг.), по данным КУ Бюро судебно-медицинской экспертизы, наибольшая смертность при острых отравлениях зарегистрирована в 2007 г. – 0,391 случая на 1 тыс. населения. В среднем за пять лет общая смертность составила 0,341 ± 0,020 случая на 1 тыс. населения. По нозологическим формам в среднем: этанолом – 0,111 ± 0,007, наркотическими веществами – 0,092 ± 0,007, угарным газом – 0,095 ± 0,003, органическими растворителями и техническими жидкостями – 0,0106 ± 0,001, лекарственными веществами – 0,0042 ± 0,001, психотропными – 0,0036 ± 0,0008 случая на 1 тыс. населения.

**Заключение.** Изучая анализ динамики острых отравлений в ХМАО – Югре за пятилетний период, можно констатировать, что имеется тенденция к увеличению числа случаев острой химической травмы с увеличением доли острых отравлений у детей и преобладанием преднамеренных отравлений с наибольшей летальностью в группе отравлений алкоголем, наркотиками и другими психотропными средствами и смертностью в тех же группах, а также в группе отравлений угарным газом. Организация окружного информационно-консультативного токсикологического центра, проведение тематического усовершенствования по клинической токсикологии для врачей, оказывающих неотложную помощь и профилактические мероприятия, позволят улучшить оказание токсикологической помощи и снизить количество острых отравлений на территории.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** *Брусин К.М.* Токсическое поражение сердца при острых отравлениях химической этиологии: Дис. … д-ра мед. наук. – Екатеринбург, 2003. – 269 с.
**2.** *Гребенюк А.Н.* Подготовка врачей по токсикологии: современное состояние и ближайшие перспективы // Токсикологический вестник. – 2010. – № 3. – С. 37–41.
**3.** *Курляндский Б.А.* Профилактическая токсикология: проблемы, задачи, перспективы // Токсикологический вестник. – 2010. – № 3. – С. 11–13.
**4.** *Лужников Е.А., Суходолова Г.И.* Клиническая токсикология. – М.: Медицина. – 2008. – 576 с.
**5.** Наркомании в США / В.Г. Сенцов, С.И. Спектор, С.И. Богданов. – М.; Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2004. – 168 с.
**6.** Наркомании и алкоголизм: медицинские, социальные и экономические аспекты / С.И. Спектор, Е.А. Кошкина, Г.А. Ковалёва, В.Г. Сенцов, С.И. Богданов. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2005. – 208 с.
**7.** *Нужный В.П.* Негативные последствия потребления алкоголя и токсичность алкогольных напитков // Вопросы наркологии. – 2010. – № 6. – С. 16–18.
**8.** *Остапенко Ю.Н., Литвинов Н.Н., Рожков П.Г., Ильяшенко К.К., Гольдфарб Ю.С.* Проблемы стандартизации стационарной медицинской помощи в клинической токсикологии // Анестезиология и реаниматология. – 2008. – № 6. – С. 11–15.
**9.** Современное состояние эпидемиологии острых химических отравлений и токсикологической помощи населению / Ю.Н. Остапенко, Н.Н. Литвинов, П.Г. Рожков и др. // Токсикологический вестник. – 2010. – № 3. – С. 34–37.
**10.** Экология Ханты-Мансийского автономного округа / Под ред. Л.Н. Добринский. Тюмень: СофтДизайн. 1997. – 288 с.
**11.** *Элленхорн М.Дж.* Медицинская токсикология. Диагностика и лечение отравлений у человека: В 2-х т. Пер. с англ. – М.: Медицина, 2003. – Т. 1. – 556–1048 с.
**12.** *Яцинюк Б.Б. Сенцов В.Г., Кучма В.Ф.* Токсиканты нефтегазодобывающего производства и их влияние на здоровье. Нижневартовск: Югорский изд. дом, 2009. – 182 с.
**13.** Goldfrank's tixicologic emergencies 5th. Ed. / Ed. By L.R. Goldfrank – NY, 1994. – 1589 p.
**14.** The use of low-dose insulin in cardiogenic shock due to combined overdose of verapamil, enalapril and metoprolol / T. Hasin, D. Leibowitz, M. Antopolsky et al. // Cardiology. – 2006. 106, № 4. – P. 233–236.
**15.** Use of vasopressin in a canine model of severe verapamil poisoning: a preliminary descriptive study / M.D. Sztajnkrycer, G.R. Bond, S.B. Johnson et al. // Acad Emerg Med. – 2004. – 11, № 12. – P. 1253–1261.


*B.B. Yatsinuk*

**Epidemiology of acute poisonings in the Khanty-Mansiisk Autonomous Area-Yurga**

Khanty-Mansiisk State Medical Academy, 268011, Khanty-Mansiisk, Russian Federation

The analysis of acute poisonings on the territory of the Khanty-Mansiisk Autonomous Area-Yurga conducted over the period of 2007-2011 allowed to assess the dynamics and structure of acute poisonings. The retrospective analysis encompasses 8777 incidents of poisonings in adults and children. The analysis showed a trend of an increasing number of acute chemical trauma along with an increased proportion of acute poisonings in children and prevalent intentional poisonings, the greatest lethality in the group of poisonings with alcohol , narcotic drugs and psychotropic preparations and mortality in the same groups of people and in the group of poisonings by carbonous oxide.

***Key words:*** *epidemiology, poisonings*

Материал поступил в редакцию 02.07.2012 г.

УДК 547.1 : 57.04

# ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В СОСТАВЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

*И.Н. Немкова[1], Т.А. Гуськова[2], Р.Д. Сюбаев[1], Г.Н. Енгалычева[1], А.Н. Васильев[1]*

*[1] ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, 127051, г. Москва*
*[2] Некоммерческое партнерство содействия здравоохранению «Научный центр контроля качества» (НП СЗ НЦКК), 109074, г. Москва*

В рамках оценки безопасности комбинированной фармакотерапии принципиальное значение имеет изучение эффектов токсикологического взаимодействия активных препаратов, составляющих комбинацию. Для оценки токсикологического взаимодействия выполнены исследования с применением экспресс-метода in vitro с использованием сперматозоидов быка. Определены параметры цитотоксического действия ($ИК_{50}$) метамизола натрия, ибупрофена, ацетилсалициловой кислоты, парацетамола, дифенгидрамина, кофеина и некоторых комбинаций этих лекарственных средств. Наиболее выраженное цитотоксическое действие на данной модели оказывал метамизол натрия, а наименее выраженное – кофеин. Проведена оценка возможного токсикологического взаимодействия лекарственных средств при их комбинированном применении на основании экспериментальных и гипотетических показателей цитотоксичности. Установлено, что использование метода изучения цитотоксичности in vitro является целесообразным при оценке безопасности отдельных лекарственных средств и лекарственных комбинаций.

***Ключевые слова:*** *цитотоксичность, лекарственные средства, токсикологическое взаимодействие.*

**Введение.** Комбинированная фармакотерапия является научно обоснованным принципом эффективного воздействия на различные звенья патогенеза заболевания, что находит отражение в современных стандартах лечения. Кроме того, в последнее время возрос интерес к созданию препаратов на основе фиксированных комбинаций из известных лекарственных средств (ЛС) [1]. Это обусловлено клинической потребностью повышения эффективности лекарственной терапии, а также определенной экономической привлекательностью подобных разработок, которые часто не требуют значительных технологических затрат. Вместе с тем, условием клинической целесообразности применения комбинированной фармакотерапии является ее рациональность с точки зрения эффективности и безопасности с учетом фармакологической и токсикологической совместимости активных компонентов. Безопасность комбинированных лекарственных средств должна быть оценена по результатам экспериментальных токсикологических исследований, так как токсикологическое взаимодействие активных компонентов таких препаратов может стать причиной токсических эффектов и серьезных осложнений [2]. Экспериментальное токсикологическое изучение in vivo является одним из наиболее достоверных источников информации о потенциальных токсических эффектах многокомпонентных ЛС. Однако, учитывая большие финансовые и временные затраты на эти исследования, современные отечественные и зарубежные методические ру-

*Немкова Ирина Николаевна (Nemkova Irina Nikolaevna)*, эксперт первой категории ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Nemkova@expmed.ru
*Гуськова Татьяна Анатольевна (Guskova Tatyana Anatolievna)*,член-корр. РАМН, Некоммерческое партнерство содействия здравоохранению «Научный центр контроля качества» (НП СЗ НЦКК), Москва, tagus@rambler.ru
*Сюбаев Рашид Даутович (Syubaev Rashid Dautovich)*, доктор медицинских наук, главный эксперт ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, rds651@mail.ru, subaev@expmed.ru
*Енгалычева Галина Нинелевна (Engalycheva Galina Ninelevna)*, кандидат биологических наук, ведущий эксперт ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, gengalycheva@mail.ru
*Васильев Андрей Никифорович (Vasiliev Andrey Nikiforovich)*, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России

ководства, как правило, рекомендуют редуцированные программы токсикологических исследований для лекарственных комбинаций [3, 4]. При этом предполагается, что безопасность комбинаций известных ЛС вполне удовлетворительно может быть охарактеризована в результате анализа токсических свойств отдельных компонентов. Практическая невыполнимость полной программы стандартных доклинических исследований всех возможных сочетаний ЛС при комбинированной терапии вынуждает использовать аналитические методы прогнозирования и альтернативные экспресс-методы in vitro [5, 6, 7].

*Целью работы* являлось изучение возможности применения альтернативного метода токсикологических исследований in vitro для оценки токсикологического взаимодействия ЛС.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проводились с применением экспресс-метода оценки цитотоксичности in vitro в модификации Р.И. Каюмова и А.П. Еськова [8]. В качестве клеточного тест-объекта использованы сперматозоиды быка. Метод основан на определении изменения подвижности сперматозоидов под воздействием фармакологических веществ, содержащихся в исследуемых образцах по сравнению с подвижностью сперматозоидов в образцах, не содержащих исследуемых веществ. Сперма быка сохраняется до эксперимента в виде гранул в замороженном виде в жидком азоте. Анализатор токсичности осуществляет видеорегистрацию двигательной активности клеток. Конструкция механической части анализатора позволяет одновременно оценивать подвижность клеток в 5 пробах (капиллярах) для каждого разведения исследуемых образцов. Продолжительность экспозиции исследуемых веществ составляет 2–2,5 часа и соответствует периоду сохранения подвижности клеток в контрольных образцах. В результате автоматизированной обработки данных на дисплее представляется графическое изображение «концентрация–эффект». Определяется концентрация, вызывающая снижение подвижности сперматозоидов на 50% ($ИК_{50}$) при значении коэффициента вариации проб не более 15%. Была изучена цитотоксичность следующих лекарственных веществ: ацетилсалициловой кислоты, ибупрофена, метамизола натрия, парацетамола, кофеина, дифенгидрамина, а также комбинации лекарственных веществ: метамизола натрия + дифенгидрамина (10:1), ибупрофена + дифенгидрамина (10:1), ибупрофена + метамизола натрия (1:1). Для оценки механизма токсикологического взаимодействия ЛС проводили сравнение экспериментального показателя цитотоксичности комбинации ($ИК_{50}$) с расчетными значениями гипотетической $ИК_{50}$ комбинации, соответствующей аддитивному характеру цитотоксичности. Гипотетическое значение $ИК_{50}$ комбинации рассчитывали по уравнению аддитивности:

$$ИК_{50}\ комбинации = (d_1 + d_2 + \ldots + d_n)/(d_1/ ИК_{50(1)} + d_2/ ИК_{50(2)} + \ldots + d_n/ ИК_{50(n)}),$$

где $d_1, d_2, \ldots d_n$ – абсолютные весовые значения или относительные доли компонентов комбинации;

$ИК_{50(1)}$, $ИК_{50(2)}$, $ИК_{50(n)}$ – значения $ИК_{50}$ отдельных компонентов комбинации, полученные в эксперименте.

**Результаты и обсуждение.** Исходя из полученных значений $ИК_{50}$ в весовой размерности «мкг/мл», наиболее выраженным цитотоксическим действием обладал метамизол натрия (табл. 1). По убыванию цитотоксического действия исследуемые вещества располагаются в следующем порядке: метамизол натрия > дифенгидрамин > ацетилсалициловая кислота > ибупрофен > парацетамол > кофеин. При этом $ИК_{50}$ кофеина, обладающего наименее выраженным цитотоксическим действием, превышает $ИК_{50}$ метамизола натрия в 65 раз. В молярной размерности «mM/л» исследуемые ЛС располагаются в том же порядке, однако наблюдается существенное увеличение показателя относительной цитотоксичности метамизола натрия – до 108 и дифенгидрамина – до 34.

Результаты оценки цитотоксичности комбинаций ЛС представлены в таблице 2. Сравнение экспериментальных значений $ИК_{50}$ указывает на 18-кратное различие цитотоксичности двух аналогичных по количественному составу комбинаций дифенгидрамина с ибупрофеном ($ИК_{50}$ = 1250 мкг/мл) и метамизолом натрия ($ИК_{50}$=69 мкг/мл) при соотношении в комбинации 1:10. $ИК_{50}$ комбинации ибупрофен + метамизол натрия (1:1) составляет 500 мкг/мл, т.е. цитотоксичность этой комбинации в 10 раз ниже цитотоксичности метамизола натрия ($ИК_{50}$=51 мкг/мл).

Вычисленные с помощью уравнения аддитивного токсического действия гипотетические значения $ИК_{50}$ изученных лекарственных комбинаций (табл. 2) позволяют провести оценку характера возможного токсикологического взаимодействия ЛС. Для комбинаций ибупрофен+дифенгидрамин и ибупрофен+метамизол натрия экспериментальные значения $ИК_{50}$ выше гипотетических $ИК_{50}$, что может говорить о положительном типе взаимодействия ЛС, приводящем к снижению их цитотоксичности. Для комбинации метамизол натрия + дифенгидрамин экспериментальное значение $ИК_{50}$ сопоставимо с гипотетическим, что может свидетельствовать о наиболее вероятном аддитивном характере цитотоксичности и об отсутствии эффектов токсикологического взаимодействия указанных препаратов.

Изучение цитотоксических эффектов взаимодействия ЛС in vitro для оценки безопасности сочетанного использования лекарственных препаратов имеет большое значение, однако, следует учитывать, что возможно различие реакций целостного организма и отдельных клеток на введение ЛС. В обычных условиях эксперимента in vitro оценивают прямое действие на живые клетки самого вещества, но не его возможно более активных и токсичных метаболитов, которые могут образоваться in vivo. Кроме того, цитотоксическое действие на определенные клетки может быть не единственным механиз-

*Таблица 1*

**Экспериментальные значения $ИК_{50}$ и относительная цитотоксичность изученных лекарственных средств**

| Лекарственное средство | $ИК_{50}$ (мкг/мл) | Относительная цитотоксичность | Молек. масса | ИК50 mM/л | Относительная цитотоксичность |
|---|---|---|---|---|---|
| Метамизол натрия | 51±3,4 | 65 | 351,36 | 0,145 | 108 |
| Дифенгидрамин | 133±8,9 | 25 | 291,82 | 0,456 | 34 |
| Ацетилсалициловая кислота | 200±13 | 17 | 180,15 | 1,11 | 14 |
| Ибупрофен | 400±27 | 8,3 | 206,29 | 1,94 | 8,1 |
| Парацетамол | 1250±84 | 2,6 | 151,17 | 8,27 | 1,9 |
| Кофеин | 3330±223 | 1 | 212,21 | 15,7 | 1 |

*Таблица 2*

**Экспериментальные и гипотетические показатели цитотоксичности лекарственных комбинаций**

| Лекарственная комбинация | Экспериментальное значение $ИК_{50}$ комбинации (мкг/мл) | Гипотетическое значение $ИК_{50}$ комбинации (мкг/мл) |
|---|---|---|
| Ибупрофен + Дифенгидрамин (10:1) | 1250±84 | 338±23 |
| Метамизол натрия + Дифенгидрамин (10:1) | 69,0±4,6 | 54,0±3,6 |
| Ибупрофен + Метамизол натрия (1:1) | 500±34 | 90,5±6,0 |

мом нарушения гомеостаза организма при введении препаратов. Причиной нарушения гомеостаза различных систем организма (нервной, сердечнососудистой, дыхательной и др.) могут быть не только токсические, но и фармакологические свойства активных компонентов комбинированных ЛС. Так, различием цитотоксических и системных эффектов можно объяснить тот факт, что метамизол натрия обладает удовлетворительной клинической переносимостью (и применяется в более высоких дозах, чем кофеин), поскольку, в отличие от кофеина, не оказывает лимитирующего возбуждающего действия на ЦНС и сердечно-сосудистую систему. При этом известные миелотоксические эффекты метамизола, приводящие к развитию лейкопении и агранулоцитоза, по-видимому, могут рассматриваться как следствие его высокой цитотоксичности, наблюдавшейся в эксперименте in vitro.

**Заключение.** Несмотря на то, что методы in vitro не являются полноценной альтернативой изучению токсичности in vivo при оценке безопасности комбинированных препаратов, их применение для изучения лекарственного взаимодействия представляется весьма целесообразным и рациональным. Применение данного метода исследования цитотоксичности поможет с меньшей степенью финансовых и временных затрат осуществлять подбор наиболее безопасных лекарственных препаратов при создании комбинированных ЛС.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** Номенклатура лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций, зарегистрированных в Российской Федерации. Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2011; 1: 11–18.
**2.** *Гуськова Т.А., Сюбаев Р.Д., Немкова И.Н., Енгалычева Г.Н.* Изучение токсичности лекарственных средств in vitro при оценке их токсикологического взаимодействия. Биомедицина. 2010; 5: 74–76.
**3.** *Миронов А.Н.,* ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012.
**4.** ICH Guideline M3(R2) on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals, December 2009.
**5.** *Гуськова Т.А., Волков А.Б., Еськов А.П., Каюмов Р.И.* Ускоренная оценка токсичности потенциальных фармакологических средств и новых химических соединений с помощью клеточного тест-объекта // Всесоюзная научная конференция «Оценка фармакологической активности фармакологических соединений: Принципы и подходы». Купавна; 1989; ч. 1: 102.
**6.** *Каркищенко Н.Н.* Классические и альтернативные модели в лекарственной токсикологии. Биомедицина. 2006; 4: 5–23.
**7.** Concept paper on the Need for Revision of the Position on the Replacement of Animal Studies by in vitro Models (EMA/CHMP/SWP/169839/2011).
**8.** *Каюмов Р.И., Еськов А.П.* Экспресс-оценка общей острой токсичности методом in vitro с использованием спермы быка в качестве клеточного тест-объекта. М.: ЗАО Биомедицинский контроль; 2000.


I.N. Nemkova, T.A. Guskova, R.D. Syubaev, G.N. Engalycheva, A.N. Vasiliev

**In vitro study on cytotoxic effect of non-steroidal anti-inflammatory agents used in the composition of combined medicinal preparations**

[1] Federal State Budgetary Institution «Scientific Center of Medical Application Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russian Federation.
[2] Non-commercial partnership of healthcare assistance «Scientific centre of quality control», 109074, Moscow, Russian Federation.

Investigations into effects of toxicological interaction between active preparations composing a combination has a principle importance within the safety assessment of a combined pharmacotherapy. To assess a toxicological interaction, investigations using a bull-sperm-based in vitro express-method were conducted. Parameters of cytotoxic effects ($IC_{50}$) of metamizole sodium, ibuprofen, acetylsalicylic acid, paracetamol, diphenhydramine, caffeine and some combinations of these medicinal preparations were determined. Metamizole sodium showed the most expressed cytotoxic effect on this model, and caffeine manifested the least expressed effect. A possible toxic interaction between medicinal agents at their combined administration was assessed based on experimental and tentative cytotoxicity indicators. It was established that the in vitro method for investigation of cytotoxicity is feasible to assess the safety of individual medicinal preparations and medicinal combinations.

***Key words:*** *cytotoxicity, medicinal preparations, toxicological ineraction.*

Материал поступил в редакцию 16.07.2013 г.

УДК 615.9

# ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КВЕТИАПИНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

*Т.Х. Вергейчик,*
*В.А. Линникова,*
*Г.Б. Гуськова*

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 357532, г. Пятигорск*

Кветиапина фумарат – антипсихотическое средство, применяемое при лечении шизофрении с продуктивной и негативной симптоматикой. Описаны случаи отравления кветиапином при случайной и умышленной передозировке. Для химико-токсикологического исследования биологических объектов разработаны методики изолирования кветиапина из мочи, крови, печени, почек. Показано, что для обнаружения кветиапина можно использовать методы ТСХ, ВЭЖХ, ГЖХ. УФ-спектр кветиапина не имеет характерных максимумов поглощения, поэтому необходимо рассчитывать вторую производную по спектральной кривой для выяснения положения максимумов светопоглощения и снижения влияния эндогенных соединений, извлекаемых из биологических объектов. Для количественного определения кветиапина предложен метод ВЭЖХ. С помощью разработанных методик можно обнаружить и определить в моче – 80,8 ± 2,5%, в крови – 72,4 ± 3,7%, в печени – 58,9 ± 4,1%, почках – 57,7 ± 5,9% кветиапина от введенного количества. Методики рекомендованы для целей судебно-химического анализа.

***Ключевые слова:*** *кветиапина фумарат; отравления; анализ; биологические объекты.*

**Введение.** Кветиапина фумарат в медицинской практике используется в качестве антипсихотического средства при шизофрении с продуктивной и негативной симптоматикой. Кветиапина фумарат выпускается в виде таблеток по 25, 100, 150, 200 и 300 мг [1, 2].

При пероральном применении кветиапин быстро поступает в системный кровоток, прием пищи почти не влияет на его биодоступность. Однако кветиапин проявляет побочные эффекты: сонливость, головокружение, диспепсия, сухость во рту, тахикардия, повышение АД, кашель, сильное потоотделение и др. [2, 3].

Химико-токсикологическое значение кветиапина определяется его возможной передозировкой или умышленным приемом. Известны случаи приема кветиапина в дозах от 12 до 36 г с суицидальной целью [4, 5, 6, 7, 8]. Описаны случаи отравления кветиапином фумаратом и в нашей стране [9, 10, 11]. Следует отметить, что даже терапевтическое применение кветиапина может привести к трагическим последствиям, т.к. его побочным действием является снижение внимания, координации, заторможенность. В нашей практике возникла необходимость обнаружения кветиапина в органах человека, погибшего на железнодорожных путях. Его гибель произошла в период курса лечения кветиапином в психоневрологическом диспансере.

Для изолирования кветиапина из биологических объектов использовались жидкость-жидкостная экстракция или общие методы, применяемые для выделения соединений кислотного, нейтрального и основного характера. Обнаружение и определение кветиапина, выделенного из биологических объектов, проводилось с помощью газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией [10, 12], ТСХ, ВЭЖХ, ИК-спектроскопии [9, 10]. Некоторые авторы рекомендуют в моче обнаруживать кветиапин по его метаболиту N-дезалкилдиазепину, используемому в качестве маркера [13].

*Основной задачей настоящей работы* явилась разработка методик изолирования, обнаружения и определения кветиапина в объектах химико-токсикологического анализа, в качестве которых были выбраны кровь, моча, печень, почки. Все испытания проводили на модельных смесях. Основываясь на данных по содержанию кветиапина во внутренних органах при смертельных отравлениях [5, 8, 12], рассчитывали навеску препарата для каждого биологического объекта. В мочу вносили 0,06 мг/мл, в кровь – 0,64 мг/мл, в печень и почки – 0,24 мг/г кветиапина. В качестве контрольных опытов использовали по 3 навески каждого объ-

*Вергейчик Тамара Харитоновна (Vergeychik Tamara Kharitonovna),* Пятигорский медико-фармацевтический институт − филиал ГБОУ «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра токсикологической химии, доцент, toxic-pgfa@yandex.ru
*Линникова Валентина Акимовна (Linnikova Valentina Akimovna)*, Пятигорский медико-фармацевтический институт −филиал ГБОУ «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, старший преподаватель; toxic-pgfa@yandex.ru
*Гуськова Галина Багдасаровна (Gus'kova Galina Bagdasarovna)*, Пятигорский медико-фармацевтический институт −филиал ГБОУ «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, преподаватель, toxic-pgfa@yandex.ru

екта, в которые кветиапин не вносили. Объекты оставляли на сутки при комнатной температуре.

**Материалы и методы исследования.** Предварительными опытами было установлено, что кветиапин экстрагируется хлороформом из растворов с pH 2 со степенью извлечения 1,71 ± 0,45%, из растворов с pH 10 - 98,5 ± 1,5%.

*Изолирование кветиапина из мочи.* 50 мл модельной смеси мочи, содержащей 3 мг кветиапина (6 опытов) и 50 мл мочи, не содержащей кветиапин (3 опыта), подщелачивали 25%-ным раствором аммиака до pH 10 и экстрагировали хлороформом трижды, объемами 20, 15 и 15 мл. Полученные экстракты фильтровали, помещая на фильтр по 3 г натрия сульфата безводного с целью обезвоживания и расслоения образовавшейся эмульсии. Хлороформ испаряли в фарфоровых чашках при комнатной температуре в вытяжном шкафу. Сухие остатки растворяли в 3 мл 96%-ного спирта этилового и использовали для анализа.

*Изолирование кветиапина из крови.* К 5 мл модельной смеси крови, содержащей 3,2 мг кветиапина (6 опытов), и к 5 мл крови, не содержащей кветиапин (3 опыта), добавляли аммония сульфат до получения однородной массы, заливали смесью хлороформ – 96%-ный спирт этиловый (1:1) до зеркала и тщательно перемешивали в течение 3 минут. Органическую фазу сливали и экстракцию повторяли еще 2 раза. Объединенные экстракты испаряли до сухого остатка при комнатной температуре. Остатки растворяли в 3 мл 96%-ного спирта этилового и использовали для анализа.

*Изолирование кветиапина из печени и почек.* Объекты – модельные смеси массой 25 г, содержащие 6 мг кветиапина (6 опытов) и не содержащие кветиапин (по 3 опыта) настаивали с водой, которую добавляли в двойном объеме по отношению к массе объекта, подкисляли до pH 2 раствором щавелевой кислоты. Настаивание проводили 2 раза по 2 и 1 часу. Полученные водные извлечения сливали, объединяли, процеживали через слой ваты в делительные воронки. Проводили экстракцию хлороформом порциями по 20, 15 и 15 мл 3 раза при значении pH 2 (очистка). Затем водный раствор подщелачивали 25%-ным раствором аммиака до pH 10 и вновь трижды экстрагировали вышеуказанными объемами хлороформа. Хлороформные экстракты объединяли, расслаивали эмульсию с помощью центрифуги и органический растворитель испаряли до сухого остатка, который затем растворяли в 10 мл 96%-ного спирта этилового и подвергали анализу.

*Обнаружение кветиапина в извлечениях с помощью ТСХ.* Для анализа использовали пластинки «Sorbfil» и «Силуфол УФ-254», на которые наносили полученные из биологических объектов экстракты и в качестве «свидетеля» раствор стандартного образца кветиапина в количестве 12 мкг. Предварительно были выбраны системы растворителей: «хлороформ – ацетон – раствор 25%-ного аммиака (12:24:1) и диоксан – хлороформ – ацетон – раствор 25%-ного аммиака (47,5:45:5:2,5). Кветиапин на пластинках детектировали с помощью модифицированного реактива Драгендорфа. Стандартный образец «свидетель» и кветиапин, выделенный из каждого из исследуемых объектов, обнаруживались в виде оранжевых пятен и имели одинаковое значение Rf.

Обнаружение кветиапина в извлечениях с помощью ВЭЖХ. Использовали хроматограф «Милихром А–02» производства ЗАО «Эконова». Условия проведения анализа: хроматографическая колонка размером 2х75 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом «Pronto Sil 120-5С-18 AQ»; подвижная фаза: элюент А – 2%-ный раствор трифторуксусной кислоты, элюент Б -ацетонитрил; скорость подачи подвижной фазы – 100 мкл/мин.; аналитическая длина волны 290 нм; температура термостата 35 °С; градиентный режим от 10% элюента Б до 45% за 1 мин.; объем вводимой пробы – 15 мкл.

*Обнаружение кветиапина методом ГЖХ.* Для анализа использовали прибор «Кристалл 2000М» производства ЗАО СКБ «Хроматэк» г. Йошкар-Ола. Выбранные условия анализа: капиллярная колонка НР-5 с неполярной неподвижной жидкой фазой (5%-ный дифенил и 95%-ный диметил полисилоксан); детектор ПИД – 290 °С, испаритель – 290 °С, колонка – 220 °С; время хроматографирования – 10 мин.; расход газов: азот – 2,21 мл/мин., водород – 25 мл/мин.; воздух – 200 мл/мин., коэффициент деления газа-носителя – 1:5; объемная скорость потока газа, проходящего через колонку с учетом коэффициента деления, – 1,157.

*Обнаружение кветиапина с помощью УФ – спектрофотометрии.* В спектре поглощения, снятом в диапазоне 220–320 нм, кветиапин – «стандарт» и кветиапин, выделенный из исследуемых биологических объектов, четких максимумов не обнаруживает, поэтому нами была рассчитана 2-я производная по всему спектру для выяснения положения максимума светопоглощения.

*Количественное определение кветиапина, выделенного из биологических объектов,* проводили методом ВЭЖХ в описанных выше условиях. В качестве стандартного раствора использовали 0,1–0,8%-ный раствор кветиапина в 96%-ном спирте этиловом.

Расчет содержания проводили по формуле:

$$X = \frac{S_{исп.} \times C_{ст.} \times V}{S_{ст.} \times a} \times 100 \ ;$$

где:

$S_{исп.}$, $S_{ст.}$ – площади пиков кветиапина (длина волны детектирования 290 нм) на хроматограмме экстракта из модельной смеси и на хроматограмме стандартного раствора препарата;

$C_{ст.}$ – концентрация стандартного раствора кветиапина, мг/мл;

$a$ - количество кветиапина в модельной смеси, мг;

$V$ – объем 96%-ного спирта этилового, взятого для растворения сухого остатка после испарения экстракта из объекта.

**Результаты и обсуждение.** Полученные данные показывают, что методы изолирования кветиапина из биологических объектов позволяют выделить от 57,7 до 80,8% содержащегося в них препарата.

При обнаружении кветиапина методом ТСХ можно использовать пластинки типа «Sorbfil» или «Силуфол УФ-254». На пластинках типа «Sorbfil» обнаруживаются четкие пятна кветиапина с Rf 0,65–0,68 или 0,69–0,73 в зависимости от выбранной системы растворителей. На

пластинках «Силуфол УФ-254» значения Rf находятся в пределах 0,51–0,54 (система растворителей: «хлороформ – ацетон – раствор 25%-ного аммиака») и 0,56–0,58, 65–0,68 (система растворителей: «диоксан – хлороформ – ацетон – раствор 25%-ного аммиака»). Нижний предел обнаружения кветиапина в пробе с помощью ТСХ составляет 6 мкг.

В эксперименте показано, что метод ВЭЖХ позволяет обнаружить кветиапин по времени удерживания 10,86–11,92 мин., которое совпадает для кветиапина – «стандарта» и для кветиапина, выделенного из различных биологических объектов. Метод можно считать специфичным, так как в контрольных опытах пики с таким же временем удерживания не обнаружены.

С помощью ГЖХ кветиапина «стандарт» обнаруживает 2 пика со временем удерживания 5,4 ± 0,1 и 8,1 ± 0,2 мин. На хроматограммах извлечений из биологических объектов обнаруживаются такие же 2 пика. Следует отметить, что в некоторых случаях (в извлечениях из печени) второй пик бывает асимметричным.

Применение метода УФ-спектрофотометрии для обнаружения кветиапина ограничивается тем, что его спектр не имеет явно выраженных полос поглощения, особенно при наличии «фонового» поглощения при исследовании извлечений из биологических объектов. Использование второй производной от спектра поглощения позволяет значительно снизить влияние эндогенных соединений, и на графике четко выявляются максимумы при 250 ± 2 нм и 290 ± 2 нм. Однако расчет второй производной требует проведения дополнительной обработки спектров. Этим методом можно обнаружить 10,9 мкг кветиапина в 1 мл исследуемого раствора.

Для количественного определения кветиапина, выделенного из биологических объектов, рекомендован метод ВЭЖХ. Полученные результаты анализа и их статистическая обработка приведены в таблице.

*Таблица*

**Результаты количественного определения кветиапина в биологических объектах**

| Объект анализа | $\bar{X} \pm S_{\bar{X}} \times t_{\alpha,k}$ | Площадь пика* $\bar{X} \pm S_{\bar{X}} \times t_{\alpha,k}$ | Выделение кветиапина* $\bar{X} \pm S_{\bar{X}} \times t_{\alpha,k}$ |
|---|---|---|---|
| Кветиапин – «стандарт» | 11,23±0,23 | 253,0±10,1 | ¾ |
| Моча | 10,86±0,37 | 204,6±15,5 | 80,8±2,5% |
| Кровь | 11,23±0,25 | 183,3±12,1 | 72,4±3,7% |
| Печень | 11,92±0,61 | 149,0±12,3 | 58,9±4,1% |
| Почки | 11,36±0,13 | 146,4±14,1 | 57,7±5,9% |

* Среднее из 6 опытов.
Приведенные данные показывают, что методика определения позволяет получить хорошо воспроизводимые результаты.

**Заключение.** В результате проведенных исследований разработаны методики изолирования кветиапина из биологических объектов (крови, мочи, печени, почек). Для обнаружения кветиапина предложены методы ТСХ, ВЭЖХ и ГЖХ. Метод УФ-спектрофотометрии можно использовать после расчета второй производной от спектра поглощения с целью выявления максимумов и снижения влияния «фонового» поглощения, создаваемого за счет эндогенных соединений. Для количественного определения кветиапина, выделенного из биологических объектов, рекомендован метод ВЭЖХ. С помощью разработанных методик, в случае отравления, из мочи можно выделить 80,8 ± 2,5% , из крови – 72,4 ± 3,7%, из печени - 58,9 ± 4,1%, из почек – 57,7 ± 5,9% кветиапина.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. 15-е изд., М.: ООО «Издательство Новая Волна»; 2005.
**2.** Регистр лекарственных средств России РЛС., вып.19. М.: РЛС – МЕДИА:2010.
**3.** *Гаврилова С. И., Селезнева Н.Д., Калын Я.Б., Колыхалов И.В.* Сероквель в лечении и психотических и поведенческих симптомов болезни Альцгеймера. Психиатрия и психофармакотерапия. 2002; 6: 218–221.
**4.** *Capuano A., Ruggiero S., Vestini F., Ianniello B., Rafaniello C., Rossi F., Mucci A.* Survival from coma induced by an intentional 36-g overdose of extended-release quetiapine. Drug and Che mical Toxicology, 2011 October, Vol. 34, (4): 475–477.
**5.** *Hunfeld N.G.M., Westerman E.M., Boswijk D.J., de Haas J. A.M., van Putten M.J.A.M., Touw D.J.* Quetiapine in Overdosage: A ClinicaI and Pharmacokinetic AnaIysis of 14 Cases. Therapeutic Drug Monitoring: 2006, AprIl. VoI. 28, Issue 2: 185–189.
**6.** *Parker D.R., Mclntyre l.M.* Case studies of postmortem quetiapine: therapeutic or toxic concentrations? J. Anal. Toxicol, 2005, Jul-Auq; 29 (5): 407–412.
**7.** *Surendra K Mattoo, Ruchita Shah, R Rajagopal, Partha Sarathy, Biswas, Shubh Mohan Singh.* Quetiapine Relatively safe in overdose? Case Report, 2009. Vol. 51, Issue 2: 139–140.
**8.** *Wise S., Jenkins A.J.* Disposition of quetiapine in bioloqical specimens from postmortem cases. J. Forensic Sci, 2005 Jan, 50(1): 209–214.
**9.** *Клевно В.А., Исакова В.Д.* Химико-токсикологический анализ сероквеля: Материалы научно-практической конференции. 2008, 5–6 июня. Санкт-Петербург: ГУЗ, 2008.
**10.** *Мельник А.А., Григорьев А.М., Азарова Л.В.* Определение кветиапина, его производных и метаболитов методами газожидкостной хромато-масспектрометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии в биологических образцах. Сорбционные и хроматографические процессы. 2010; 10., вып.1: 35–46.
**11.** *Мингазов А.А.* Случай смерти от отравления кветиапином. Проблемы экспертизы в медицине. Научно-практический журнал. 2007; т. 7, (3): 62–63.
**12.** *Lanqman L.J., Kaliciak H.A., Carlyle*. Fatal overdoses associated with quetiapine. J.Anal. Toxicol, 2004, Sep, 28 (6): 520–525.
**13.** Detection and identification of atypical quetiapine metaboIite in urine. Central European Journal of Medicine 2008 September, VoI. 3, Issue 3: 327–331. Avaible at: http://link.springer.com/article/10.2478%2Fs11536-008-0015-0.


*T.Kh. Vergeychik, V.A. Linnikova, G.B. Gus'kova*

**Chemical-toxicological analysis of quetiapine in biological objects**

Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute, Branch of the State Budget Educational Establishment of Higher Professional Education «Volgograd State Medical University» , RF Ministry of Health. 357532, Pyatigorsk

Quetiapine Fumarate is an anti-psychotic neuroleptic used to treat schizophrenia with productive and negative symptomatology. Cases of intoxications with casual and intentional overdoses of quetiapine are described. Methodologies for quetiapine isolation in urine, blood, liver, kidneys are developed for chemical-toxicological investigation of biological objects. It was shown that TLC, HLPC, GLC methods may be used to detect quetiapine.

UV spectrum does not have characteristic absorption maxima and therefore it is necessary to calculate the second derivative of the spectral curve to find out positions of maximum light absorbance and reduction of influence of endogenic compounds extracted from biological objects . The HLPC method is proposed for a quantitative determination of quetiapine. Thanks to methods developed, it is possible to detect and determine the amount of quetiapine in relation to the given dose in urine 80.8±2.5% , in blood 72.4 ±3.7%, in liver 58.9±4.1%, in kidneys 57.7±3.9%. The methods are suggested for the purposes of forensic chemistry.

***Key words:*** *quetiapine fumarate. Intoxications, analysis*

Переработанный материал поступил в редакцию 28.05.2013 г.

УДК: 615.9: 611 – 018.53

# МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ДИОКСИДА СЕРЫ

*М.В. Долгушин[1], Л.М. Соседова[2]*

*[1]НИИ биофизики ФГБОУ ВПО Ангарской государственной технической академии Министерства образования и науки РФ, 512902, г. Ангарск.*
*[2]Ангарский филиал ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека, 665827, г. Ангарск.*

Проводили цитохимический анализ лейкоцитов морских свинок, подвергнутых ингаляции диоксидом серы ($SO_2$). Выявлена метаболическая стимуляция нейтрофилов в виде повышения интенсивности реакции на фосфатазы, гликоген и липиды. Вместе с тем в лимфоцитах изменения активности ферментов, отражающих состояние окислительных и гидролитических процессов, имели дифференцированный характер, обнаруживая взаимосвязь со спецификой реагирования лизосом.

***Ключевые слова:*** *лейкоциты, метаболизм, ферменты, цитохимия, диоксид серы.*

**Введение.** Исследования общетоксических эффектов диоксида серы ($SO_2$) при биохимическом тестировании плазмы крови, эритроцитов и внутренних органов выявили изменения на уровне различных звеньев неспецифической регуляции, включая процессы повреждения и репарации клеточных мембран [8, 12, 13]. Последствиям влияния $SO_2$ на метаболическое состояние лейкоцитов также уделялось внимание, которое было сфокусировано в основном на оценке окислительных механизмов по параметрам индуцированной и спонтанной продукции активных форм кислорода в экспериментах in vitro, с участием как самого $SO_2$, так и его дериватов (сульфит-ионов) [10, 14–16]. В то же время результаты, полученные в условиях клиники, указывают на выраженную реактивность ферментативных параметров лейкоцитов крови по отношению к техногенным токсическим факторам [2, 4, 17]. В связи с этим комплексное изучение обменных сдвигов в нейтрофилах и лимфоцитах при воздействии $SO_2$, одного из основных компонентов промышленных выбросов, представляется весьма актуальным. Анализ метаболического статуса лейкоцитов позволяет своевременно фиксировать признаки нарушения клеточного гомеостаза при контакте с экотоксикантами [1, 5]. Очевидно, что эти признаки, способные выступать в роли диагностических маркеров, должны быть достаточно чувствительными, проявляясь в ходе наблюдения за относительно малочисленным контингентом и в сравнительно умеренном режиме экспозиции.

Соответственно *целью нашей работы* явилась экспериментальная оценка метаболических изменений в лейкоцитах крови при воздействии диоксида серы.

**Материалы и методы исследования.** Опыт выполняли на морских свинках, массой 250–350 г, соблюдая «Правила лабораторной практики» (Приказ Минздрава России от 26 августа 2010 года № 708н). Все животные были разделены на две группы – контрольную (n = 10) и опытную (n = 12). Особи из опытной группы подвергались воздействию $SO_2$, продолжительность ингаляции составила 10 дней, в концентрации 24 мг/м$^3$ (в два раза превышающей предельно-допустимый уровень для воздуха рабочей зоны), по 4 часа ежедневно. После прекращения экспозиции у животных забирали образцы крови, готовили мазки, которые были в дальнейшем использованы для определения метаболических параметров цитохимическими методами. При этом оценивали уровень липидов, гликогена и щелочной фосфатазы в нейтрофилах, сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в лимфоцитах, кислой фосфатазы (КФ) в нейтрофилах и лимфоцитах [9]. Реакцию на КФ применяли для анализа состояния лизосомальных мембран, выявляя «свободную» активность (после инкубации в течение часа), «общую» активность (после инкубации в течение трех часов) и «связанную» активность (как разницу между «общей» и «свободной») [6, 11]. Возрастание «свободной» активности КФ при параллельном снижении «связанной» считалось показателем дестабилизации мембран лизосом [6]. Результаты оценки цитохимических параметров представляли в условных единицах среднего цитохимического коэффициента по L. Kaplow. Кроме того, в лимфоцитах определяли уровень тартратрезистентной КФ (ТРКФ), с использованием

*Долгушин Максим Валерьевич* ( Dolgushin Maxim Valerievich), НИИ биофизики ФГБОУ ВПО Ангарской государственной технической академии Министерства образования и науки РФ, maxdolg2008@yandex.ru
*Соседова Лариса Михайловна* (Sosedova Larisa Mikhailovna), Ангарский филиал ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека, Ангарск, imt@irmail.ru

L-винной кислоты [9], результаты выражали в процентах положительно реагирующих клеток. Достоверность межгрупповых различий в значениях метаболических показателей оценивали по критерию Манна-Уитни.

**Результаты и обсуждение**. Метаболический ответ лейкоцитов крови, обнаруженный нами после $SO_2$-воздействия, при общем рассмотрении можно было охарактеризовать как адаптивный, учитывая преобладание стимулирующих влияний. Эффект $SO_2$ на нейтрофилы (табл. 1) был связан с возрастанием уровня всех определяемых параметров, отражая тем самым возможную функциональную мобилизацию различных типов гранул, а также энергетических ресурсов клетки [7]. При этом усиленная цитохимическая реакция на КФ, по всей видимости, имела ферментативную обусловленность, не сопровождаясь дестабилизацией внутриклеточных мембран (табл. 1). В то же время метаболические изменения в лимфоцитах, отмеченные в целом по группе, при первичном рассмотрении, казалось, также не имели отношения к мембраноповреждающему эффекту (табл.

*Таблица 1*

**Метаболические изменения в нейтрофилах морских свинок при воздействии диоксида серы ($SO_2$)**

| Показатель | Контрольная группа (n=10) | Опытная группа (n=12) |
|---|---|---|
| Липиды | 1,58±0,04 | 1,82±0,05* |
| Щелочная фосфатаза (ЩФ) | 2,05±0,08 | 2,43±0,05* |
| Гликоген | 2,06±0,02 | 2,47±0,06* |
| Кислая фосфатаза (КФ) | | |
| «свободная» | 0,33±0,04 | 0,74±0,05* |
| «общая» | 0,87±0,06 | 1,29±0,04* |
| «связанная» | 0,54±0,07 | 0,55±0,06 |

**Примечания.** Показана достоверность различий между значениями показателей в контрольной и опытной группах (*– $p < 0,01$).
Все показатели выражены в условных единицах цитохимического индекса.

*Таблица 2*

**Особенности изменения ферментативной активности в лимфоцитах морских свинок при воздействии диоксида серы ($SO_2$)**

| Показатель | Контрольная группа (n=10) | Опытная группа (n=12) | Подгруппа 1 опытной группы (n=5) | Подгруппа 2 опытной группы (n=7) |
|---|---|---|---|---|
| СДГ | 0,65±0,06 | 0,89±0,05** | 0,68±0,02 | 1,03±0,03**# |
| ЛДГ | 0,75±0,05 | 0,55±0,04* | 0,54±0,06* | 0,56±0,05* |
| ТРКФ | 3,2±0,7 | 9,1±1,5** | 5,0±1,3 | 11,8±1,3**# |
| КФ «свободная» | 0,54±0,05 | 0,74±0,03** | 0,72±0,03* | 0,77±0,04** |
| КФ «общая» | 1,10±0,04 | 1,13±0,05 | 0,98±0,06 | 1,26±0,02**# |
| КФ «связанная» | 0,56±0,06 | 0,40±0,05 | 0,26±0,03** | 0,52±0,04# |

**Примечания.** Показана достоверность изменений в значениях показателей активности ферментов относительно значений в группе контроля (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$) и относительно значений в подгруппе 1 (# – $p < 0,01$).
СДГ – сукцинатдегидрогеназа; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; ТРКФ – тартратрезистентная кислая фосфатаза; КФ – кислая фосфатаза лизосом.
Показатели на СДГ, ЛДГ и КФ выражены в условных единицах среднего цитохимического коэффициента, на ТРКФ – в процентах число положительно реагирующих клеток.

2). Разнонаправленные сдвиги в активности дегидрогеназ (стимуляция СДГ при параллельном снижении уровня ЛДГ), очевидно, имели отношение к переходу на более экономное расходование субстратов окисления. Кроме того, характер изменения активности гидролитических ферментов (КФ и ТРКФ) вполне можно было считать проявлением функциональной мобилизации лизосом и секреторных органелл, учитывая отсутствие статистически значимого снижения уровня «связанной» КФ и обоснованность трактовки повышенного уровня ТРКФ в качестве одного из признаков активированных лимфоидных клеток [18].

Однако, несмотря на то, что статистически достоверного снижения уровня «связанной» КФ в лимфоцитах животных из опытной группы по сравнению с контролем не происходило, некоторое затруднение в интерпретации полученных данных было вызвано отсутствием повышенной реакции «общей» КФ, поскольку именно совместная стимуляция «общей» и «свободной» КФ указывает на истинную активацию фермента [6]. Вместе с тем значения цитохимической реакции на «связанную» КФ в лимфоцитах только у некоторых животных из опытной группы (n = 5) были ниже контрольных, тогда как у остальных особей (n = 7) они колебались в пределах значений данного показателя из группы контроля. Исходя из этого факта, все особи из опытной группы были разделены на две подгруппы, в зависимости от значений «связанной» КФ в лимфоцитах (табл. 2). В ходе сравнения ферментативного статуса лимфоцитов, имеющих различия в особенностях реагирования лизосом, было выявлено, что активация СДГ, «общей» КФ и внелизосомальной ТРКФ имела место только у животных из подгруппы 2, то есть при варьировании показателей «связанной» КФ в пределах контроля. И напротив, в случае положительных результатов теста на дестабилизацию мембран лизосом (в подгруппе 1) признаки метаболической активации клеток не отмечались, при этом сохранение значений «общей» КФ в пределах контроля позволяет объяснить повышение уровня «свободной» КФ практически полностью наличием мембраноповреждающего эффекта [6, 11].

В отличие от внутриклеточных реакций, отражающих метаболическую активацию лимфоцитов, ингибирование ЛДГ проявлялось вне зависимости от состояния лизосом (табл. 2). По-видимому, сохранение стабильности лизосомальных мембран при снижении интенсивности гликолиза (подгруппа 1) в определенной степени могло быть обусловлено компенсаторным сдвигом, к которому имела отношение стимуляция СДГ. Аналогичная взаимосвязь изменений в дегидрогеназной активности и в состоянии лизосомальных мембран лимфоцитов крови ранее обнаруживалась в ходе обследования лиц, подвергавшихся воздействию производственной вибрации. В данных условиях снижение уровня ЛДГ совместно с мембранной дестабилизацией было выявлено при начальных симптомах вибрационной патологии, тогда как реципрокная реакция СДГ и ЛДГ наблюдалась при более продолжительном стаже работы, сопровождаясь функциональной активацией лизосом [3]. То есть, отмеченные нами различия в ферментативных изменениях лимфоцитов между животными, входящими в подгруппы 1 и 2, могут быть связаны с неодинаковой продолжительностью отдельных фаз метаболического ответа на воздействие $SO_2$. Очевидно, что подобные внутриклеточные сдвиги ввиду своего неспецифичного характера способны отражать индивидуальную чувствительность к целому ряду экотоксикантов, аналогично биохимическим изменениям крови, которые были сходны в общих чертах при контакте организма с $SO_2$ и другими химическими веществами [8].

**Заключение.** Таким образом, реакция лейкоцитов морских свинок на воздействие диоксида серы в условиях эксперимента проявлялась комплексом статистически значимых обменных сдвигов, имеющих различную внутриклеточную локализацию. При этом на нейтрофилы диоксид серы оказывал общее стимулирующее действие, индуцируя повышение уровня фосфатаз, гликогена и липидов. В то же время ферментативные изменения, затрагивающие состояние окислительных и гидролитических процессов в лимфоцитах, имели дифференцированный характер, обнаруживая взаимосвязь со спецификой реагирования лизосом.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** *Антошина Л.И., Павловская Н.А., Устюшин Б.В., Крючкова Е.Н.* Изменения биохимических, цитохимических, иммунологических показателей при действии низких уровней никеля на организм человека // Мед. труда и пром. экол., 2001. – № 4. – С. 36–38.

**2.** *Бикбулатова А.Н.* К проблеме токсико-аллергических состояний при контакте с химическими веществами // Казанск. мед. журнал, 1996. – № 6. – С. 411–414.

**3.** *Долгушин М.В.* Метаболический статус лимфоцитов периферической крови у рабочих виброопасных профессий // Бюл. Вост.-Сиб. научн. центра СО РАМН, 2004. – № 4. – С. 90–92.

**4.** *Иванова Л.А.* Цитохимия ферментов клеток крови в диагностике, оценке характера течения и эффективности терапии некоторых профессиональных заболеваний // Автореф. Дис. … докт. мед. наук. – М., 1991. – 47 с.

**5.** *Коленчукова О.А., Савченко А.А.* Особенности иммунометаболического статуса у лиц, подверженных воздействию техногенных факторов промышленного производства // Гигиена и санитария, 2011. – № 2. – С. 19–22.

**6.** *Михайлов Г.Т.* Использование цитохимического метода выявления кислой фосфатазы для оценки функционального состояния лизосом нейтрофилов // Лаб. дело, 1984. – № 8. – С. 468–471.

**7.** *Погорелов В.М., Козинец Г.И., Дягилева О.А., Проценко Д.Д.* Цветной атлас клеток системы крови. – М.: Практическая медицина, 2011. – 176 с.

**8.** *Соколов С.М., Юшкова Л.А.* Влияние непрерывного воздействия $SO_2$ на некоторые биохимические показатели крыс // Здравоохр. Белоруссии, 1986. – № 5. – С. 37–39.

**9.** *Хейхоу Ф.Г.Дж., Квагмино Д.* Гематологическая цитохимия. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.

**10.** *Beck-Speier I., Lenz A.G., Godleski J.J.* Responses of human neutrophils to sulfite // J. Toxicol. Environ. Health, 1994. – Vol. 41(3). – P. 285–297.

**11.** *Bitensky L.* Lysosomes and the connective tissue diseases // J. Clin. Pathol., 1978. – Vol. 12 (Suppl.). – P. 105–116.

**12.** *Gümüşlü S., Akbaş H., Alicigüzel Y. et al.* Effects of sulfur dioxide inhalation on antioxidant enzyme activities in rat erythrocytes // Ind. Health, 1998. – Vol. 36 (1). – P. 70–73.

**13.** *Gümüşlü S., Bilmen S., Korgun D.K. et al.* Age-related changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in lungs of sulfur dioxide exposed rats // Free Radic. Res., 2001. – Vol. 34 (6). – P. 621–627.

**14.** *Kienast K., Müller-Quernheim J., Knorst M. et al.* In vitro study of human alveolar macrophage and peripheral blood mononuclear cell reactive oxygen-intermediates release induced by sulfur dioxide at different concentrations // Lung, 1994. – Vol. 172 (6). – P. 335–345.

**15.** *Labbé P., Pelletier M., Omara F.O., Girard D.* Functional responses of human neutrophils to sodium sulfite ($Na_2SO_3$) in vitro // Hum. Exp. Toxicol., 1998. – Vol. 17 (11). – P. 600–605.

**16.** *Mishra A., Dayal N., Beck-Speier I.* Effect of sulphite on the oxidative metabolism of human neutrophils: studies with lucigenin- and luminol-dependent chemiluminescence // J. Biolumin. Chemilumin., 1995. – V. 10 (1). – P. 9–19.

**17.** *Sliwinski Z., Hermanowicz A., Kossmann S., Hrycek A.* Neutrophil function in chemical plant workers employed in the production of dust pesticides // Pol. J. Occup. Med. Environ. Health, 1991. – Vol. 4 (3). – P. 241–247.

**18.** *Zuzel M., Cawley J.C.* Biology of hairy cells // Best Pract. Res. Clin. Haematol., 2003. – Vol. 16 (1). – P. 1–13.


*M.V. Dolgushin[1], L.M. Sosedova[2]*

### Metabolic particularities of blood leukocytes response to sulfur dioxide exposure

[1]FSBEI HPE «Institute of Biophysics», Angarsk State Technical Academy, 512901, Angarsk
[2]Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Angarsk Branch of FSBE «East Siberian Scientific Centre for Human Ecology», Siberian branch of the Russian Academy of Medical Sciences, 665827, Angarsk, Russian Federation

A cytochemical analysis of leukocytes in guinea pigs exposed to sulfur dioxide inhalation was performed. The finding of the study was metabolic stimulation of neutrophils in the form of increasing intensity of response to phoshatase, glycogen and lipids . Along with it, changes in lymphocytes enzymes activity reflecting the state of oxidative and hydrolytic processes were of a differentiated character manifesting the interrelation with a lysosomes specific reacting.

***Key words:*** *leukocytes, metabolism, enzymes, cytochemistry, sulfur dioxide.*

Материал поступил в редакцию 01.08. 2012 г.

УДК 547.458.1:615.456.1:616-006.04:615.849.12

*А.В. Карамышева[1], Г.В. Сон[1], И.А. Маклакова[1], Н.М. Перова[1], С.А. Успенский[2], П.Л. Иванов[2], В.Н. Хабаров[2], М.А. Селянин[2]*

[1]ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора (Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники), 115522, г.Москва
[2]АНО «Международный научно-исследовательский центр инновационных технологий МАРТИНЕКС», 111123, г. Москва

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГЕЛЕВОГО МАТЕРИАЛА «БОРГИАЛ»

Проведены экспериментальные исследования биологического действия отечественного препарата на основе гиалуроновой кислоты (ГК) и бора на белых крысах. Установлено, что препарат не оказал неблагоприятного воздействия на организм животных: гематологические, биохимические и иные показатели, характеризующие состояние систем и органов у животных, подвергавшихся воздействию исследуемых соединений, не имели статистически значимых отличий от аналогичных показателей контроля. На основании первого этапа исследований можно говорить о возможности использования данного нетоксичного соединения для задач нейтрон-захватной терапии.

***Ключевые слова:*** *гиалуроновая кислота, бор, комплекс, нейтрон-захватная терапия, токсичность.*

**Введение.** Одной из основных проблем успешного клинического применения метода борнейтрон-захватной терапии является создание борсодержащих препаратов, которые должны селективно накапливаться в злокачественных опухолях, не оказывая при этом повреждающего воздействия как на окружающие здоровые ткани, так и общего неблагоприятного влияния на организм человека в целом, при поступлении бора в количествах, обеспечивающих его необходимую концентрацию в опухоли. Разработанные на сегодня соединения в большей части не обеспечивают терапевтический эффект и обладают при этом общей токсичностью и местным раздражающим действием [1, 2].

В последние годы внимание ученых привлекла гиалуроновая кислота (ГК) благодаря ее способности специфически связываться с основным поверхностно-клеточным рецептором CD44, сверхвыраженным в различных раковых клетках [3–7]. Более того, ГК обладает физико-химическими и биологическими свойствами, обуславливающими биосовместимость, биодеградацию без образования реакционноспособных токсических продуктов.

В поиске новых решений российскими учеными разработана технология твердофазной модификации ГК – созданы новые комплексы ГК целенаправленного действия, в состав которых входят различные химические элементы, например, бор, катионы металлов (цинка, серебра, золота и др.). В качестве таких материалов в ООО «Лаборатория ТОСКАНИ» создан «Материал гелевый борсодержащий стерильный на основе модифицированной гиалуроновой кислоты «БОРГИАЛ», где концентрации каждого из компонентов препарата обеспечивают клиническую эффективность, не оказывая при этом необратимого повреждения окружающих здоровых тканей и жизненно важных систем и органов человека.

Актуальность проблемы разработки и, соответственно, оценки биологической безопасности новых гелевых лечебных материалов для онкологии не вызывает сомнения, так как эти изделия имеют прямой контакт с поражёнными тканями человека, обуславливая тем самым поступле-

*Перова Нина Михайловна (Perova Nina Mikhaelovna),* к.м.н., начальник отдела токсикологических испытаний и исследований материалов и медицинских изделий ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора, г. Москва, vniiimt34@mail.ru
Карамышева Анна Валериевна (Karamysheva Anna Valeriyevna) с.н.с. отдела токсикологических испытаний и исследований материалов и медицинских изделий ФГБУ «ВНИИИМТ», г. Москва, vniiimt34@mail.ru
*Маклакова Ирина Александровна (Maklakova Irina Aleksandrovna),* к.х.н., ведущий научный сотрудник отдела токсикологических испытаний и исследований материалов и медицинских изделий ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора, г. Москва, vniiimt34@mail.ru
*Сон Григорий Валентинович (Son Grigory Valentinovich)* с.н.с. отдела токсикологических испытаний и исследований материалов и медицинских изделий ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора, г. Москва, vniiimt34@mail.ru
*Успенский Сергей Алексеевич (Uspenskiy Sergey Alekseevich),* к.х.н., ведущий научный сотрудник АНО «Международный научно-исследовательский центр инновационных технологий МАРТИНЕКС», s.a.uspenskii@mail.ru
*Иванов Павел Леонидович (Ivanov Pavel Leonidovich),* инженер-исследователь АНО «Международный научно-исследовательский центр инновационных технологий МАРТИНЕКС», г. Москва ivanovpl@inbox.ru
*Хабаров Владимир Николаевич (Khabarov Vladimir Nikolaevich),* к.х.н., генеральный директор АНО «Международный научно-исследовательский центр инновационных технологий МАРТИНЕКС», info@nc-martinex.ru
*Селянин Михаил Анатольевич (Selyanin Mikhail Anatolyevich),* президент Группы компаний Martinex, alo@martinex.ru

ние лекарственных средств с возможным неблагоприятным воздействием на организм пациента. В этой связи токсикологическое исследование вновь разработанных гелевых материалов, предлагаемых к применению в качестве внутриопухолевых средств, целесообразно и необходимо.

*Целью токсикологических исследований* явилось моделирование и оценка в эксперименте возможности использования в практической медицине нового гелевого материала «БОРГИАЛ».

Задачей исследования было изучение и оценка биологического действия вновь разработанных материалов в эксперименте, который бы наиболее близко отвечал условиям практического применения материалов, с целью экстраполяции результатов на организм человека.

**Материалы и методы исследования.** «БОРГИАЛ» синтезирован по методу, описанному в работе [8]. Состав геля (% масс.): ГК (натриевая соль) производства SHISEIDO CO., LTD KAKEGAWA FACTORY, Япония – 0,1–0,5; сополимер ГК с кислотой борной $^{10}B$ в соотношении 1:1 (доля стабильного изотопа бора $^{10}B$ в борной кислоте 97–99,6%) производства В/О «ИЗОТОП» (код продукта 70 1331 2009) – 0,1–1,0; хлористый натрий (Ultra Pure Grade, 99,99%) производства «Amresco», Германия – 0,05–0,1; фосфатный буфер марки PBS pH 7,4 производства «Amresco», Германия – 1,0; вода для инъекций (ФС 42-2620-97) – до 100. Все образцы стерилизованы паровым методом в соответствии с МУ 287-113.

Токсикологические исследования включают:

– санитарно-химические испытания, где с помощью интегральных и специфических методов оценивается химическая стабильность материала, природа мигрирующих из изделий химических соединений и их потенциальная опасность;

– токсикологические исследования – эксперимент на лабораторных животных, максимально приближенный к реальным условиям клинического применения изучаемого материала, с целью получения данных о реакции организма животных на воздействие чужеродного агента; опыты in vitro;

– испытания, устанавливающие стерильность и апирогенность материала.

Изучение токсического действия представленных на испытания материалов проведено в соответствии с документами: Стандарты серии ГОСТ Р ИСО 10993-1–2009 «Оценка биологического действия медицинских изделий»: «Ч. 1. Оценка и исследования»; «Ч. 2. Требования к обращению с животными»; ГОСТ ISO 10993-4–2011 «Ч. 4. «Исследование изделий, взаимодействующих с кровью»; ГОСТ ISO 10993-6–2011 «Ч. 6. Исследование местного действия после имплантации»; ГОСТ ISO 10993-9–2011 «Ч. 9. «Основные принципы идентификации и количественного определения потенциальных продуктов деградации»; ГОСТ ISO 10993-10–2011 «Ч. 10. исследование раздражающего и сенсибилизирующего действия»; ГОСТ Р ИСО 10993-11–2009 «Ч. 11. Исследование общетоксического действия». ГОСТ ISO 10993-12–2011 «Ч. 12. Приготовление проб и контрольных образцов». ГОСТ Р ИСО 10993-18–2009 «Ч. 18. Исследование химических свойств материалов»; ГОСТ Р 52770–2007 «Изделия медицинские. Требования безопасности. Методы санитарно-химических и токсикологических испытаний». ГОСТ Р 51148–98 «Изделия медицинские. Требования к образцам и документации, представляемым на токсикологические, санитарно-химические испытания, испытания на стерильность и пирогенность». ГФ XII. ОФС 42-0061-07. Пирогенность.

Для оценки показателей, характеризующих функциональное состояние органов и систем организма в эксперименте на крысах, использовали следующий перечень тестов: интегральные показатели (внешний вид, поведение животных, состояние кожных покровов и слизистой, шерсти, потребление пищи и воды).

Функции печени оценивались по показателям: активность аланиновой трансаминазы (АЛТ, Ед/л), аспарагиновой трансаминазы (АСТ, Ед/л), щелочной фосфатазы (ЩФ, Ед/л), содержание креатинина (мг/дл). Рассчитывали также коэффициент де Ритиса (отношение аспарагиновой к аланиновой трансаминазе) как диагностический критерий. Выбор тестов был определён необходимостью оценить состояние систем и органов, отвечающих за метаболизм, детоксикацию и способность к элиминации чужеродных агентов. Все биохимические показатели определяли на полуавтоматическом фотометрическом анализаторе «Stat Fax 1904 Plus» в комплексе с проточной кюветой «Mosguito 2400», производства фирмы «Awareness Technology inc», США.

Гематологические показатели периферической крови: содержание гемоглобина определяли на анализаторе «Stat Fax 1904 Plus», подсчет числа эритроцитов, лейкоцитов и лейкоцитарной формулы крови проводили при помощи микроскопов МБИ-15, «ЛОМО», СССР и Olympus CX41RT с видеокамерой EVS color VEC-335.

Возможное аллергенное действие материалов изучали в опыте на белых нелинейных крысах с применением провокационной внутрикожной пробы и проведении серологической диагностической реакции с сывороткой крови с целью выявления наличия комплекса «антиген-антитело» в реакции непрямой дегрануляции тучных клеток (РДТК) в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-1–2009 «Оценка биологического действия медицинских изделий», Ч. 1. «Оценка и исследования»; ГОСТ ISO 10993-10–2011 «Ч. 10. исследование раздражающего и сенсибилизирующего действия». Приложение Е «Изучение сенсибилизирующего действия на белых крысах».

По окончании эксперимента животных умерщвляли путем декапитации, изучали гематологические и биохимические показатели крови, определяли весовые коэффициенты внутренних органов по формуле:

$$K = M_{\text{органа, мг}} / M_{\text{тела, г}}$$

Статистическая обработка результатов наблюдений проводилась с использованием компьютерной программы вычисления оценки среднеквадратического отклонения результатов измерения от нормального распределения и вычисления доверительных границ погрешности результатов измерений. В таблицах с результатами испытаний приведены значения $M \pm m$.

**Результаты и обсуждение.** Схема эксперимента: двухкратные подкожные инъекции материала в высшей разовой дозе – 200 мг/кг с интервалом 7 дней, через неделю внутрибрюшинное введение в той же дозе.

Изучение общетоксического, раздражающего и сенсибилизирующего действия образцов проводили в условиях

*Таблица 1*

**Биохимические показатели сыворотки крови крыс при изучении материала «БОРГИАЛ»**

| КОНТРОЛЬ | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Показатель | АЛТ, Ед/л | АСТ, Ед/л | Коэффициент де Ритиса | ЩФ, Ед/л | Креатинин, мг/дл |
| M | 45,33 | 220,38 | 4,86 | 121,12 | 0,57 |
| m | 3,46 | 14,27 | 0,21 | 7,54 | 0,21 |
| ОПЫТ | | | | | |
| M | 42,27 | 205,70 | 4,87 | 116,95 | 0,47 |
| m | 3,09 | 13,82 | 0,44 | 18,08 | 0,05 |

*Таблица 2*

**Гематологические показатели периферической крови крыс при изучении материала «БОРГИАЛ»**

| КОНТРОЛЬ | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Показатель | L, тыс/мкл | Er, млн/мкл | Hb, г/л | Цвет. показатель |
| M±m | 6,41±0,77 | 5,05±0,15 | 159,15±4,72 | 0,95±0,02 |
| ОПЫТ | | | | |
| M±m | 7,50±1,09 | 5,34±0,85 | 171,42±9,50 | 0,96±0,08 |

*Таблица 3*

**Масса тела и весовые коэффициенты внутренних органов крыс при изучении материала «БОРГИАЛ»**

| Показатели | КОНТРОЛЬ | |
|---|---|---|
| Масса тела | 241,17±11,41 | 236,20±9,75 |
| Тимус | 0,80±0,05 | 0,81±0,11 |
| Печень | 25,57±0,62 | 26,13±1,00 |
| Селезёнка | 3,12±0,18 | 3,24±0,19 |
| Тимус/селезёнка | 0,26±0,02 | 0,25±0,19 |
| Почки | 5,89±0,10 | 6,14±0,18 |
| Масса тела 1 | 252,48±20,75 | 245,20±11,70 |

субхронического эксперимента на нелинейных белых крысах-самцах массой тела 200–270 граммов по 6 особей в опыте и контроле при подкожных (2 в дозе 200 мг/кг или 0,25 мл препарата/кг) и внутрибрюшинных инъекциях геля с использованием внутрикожной провокационной пробы. Контрольным животным в аналогичных условиях вводили 0,9% NaCl в том же объеме.

Результаты санитарно-химических испытаний: значение pH водной вытяжки из образца «БОРГИАЛ» составило 7,27 (допустимое по ТУ изготовителя 6,50–8,40). Формальдегид в вытяжке, определяемый методом СФ, не обнаружен в пределах чувствительности определения 0,003 мг/л при допустимом значении показателя 0,100 мг/л.

Результаты токсикологических испытаний. Изучение субхронической токсичности материала проводили в условиях подкожных и внутрибрюшинных введений образца «БОРГИАЛ» белым крысам-самцам в дозах, соответствующих терапевтическим. Контрольным животным вводили 0,9% NaCl в том же объёме. На протяжении всего эксперимента раздражающее действие не выявлено. На протяжении всего периода наблюдения не отмечено гибели опытных животных, изменений внешнего вида, поведения, потребления корма, двигательной активности по сравнению с контрольной группой животных. При обследовании животных с помощью лабораторных методов исследования изменений гематологических и биохимических показателей не выявлено. По результатам эксперимента с использованием провокационной внутрикожной пробы, сенсибилизирующего действия

вытяжки из образца, о наличии которого судили по РДТК, и раздражающего действия на кожу не обнаружено. Наблюдение за животными через 30 мин., 1 и 24 часа после введения разрешающей дозы не выявило наличия аллергической реакции – гиперчувствительности замедленного типа. РДТК составила 0,2% при значении показателя 10–15%, рассматриваемом как слабая реакция. На вскрытии животных макроскопически не выявлено патологических изменений внутренних органов и тканей подопытных животных. Образцы материала заключены в тонкие прозрачные соединительно-тканные капсулы без признаков воспаления. Весовые коэффициенты масс внутренних органов, в том числе иммунокомпетентных (тимус, селезёнка), опытных животных, не имеют статистически достоверных отличий от аналогичных показателей контроля. Вытяжка из образца не проявила гемолитического действия в опытах in vitro с изолированными эритроцитами кроликов: гемолиз 0,07% при допустимом значении показателя менее 2%.

Результаты обследования животных с помощью лабораторных методов исследования приведены в таблицах (1–3).

Как следует из результатов, приведенных в таблицах 1, 2, обследование животных с помощью лабораторных методов не выявило отличий в изучавшихся показателях у опытных крыс по сравнению с контролем. Значения относительной массы внутренних органов опытных и контрольных крыс приведены в таблице 3.

Результаты проведённых исследований показали, что нет статистически значимых отличий от контроля в показателях, характеризующих жизненно-важные функции у животных при воздействии гелевых материалов «БОРГИАЛ». Анализируя все показатели, по которым оценивали сенсибилизирующее действие гелевых материалов: отрицательная провокационная внутрикожная проба; значения показателя дегрануляции тучных клеток, равное 0,2%, отсутствие отличий от контроля весовых коэффициентов иммунокомпетентных органов – тимуса и селезёнки и соотношения показателей весовых коэффициентов тимус/селезенка, можно сделать вывод о том, что изученные материалы не обладают аллергенным действием.

**Заключение.** Проведённые исследования не выявили изменений в гематологических, биохимических и иных показателях, характеризующих состояние систем и органов у животных, подвергавшихся воздействию исследуемых соединений, что позволяет сделать вывод о возможности применения изученных материалов для повышения эффективности нейтронного облучения при проведении нейтрон-захватной терапии радиорезистентных злокачественных опухолей. Все исследуемые образцы стерильны и апирогенны.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** *Barth R.F., Soloway A.H., Goodman J.H., Gahbauer R.A., Gupta N., Blue T.E., Yang W. and Tjarks W.* Boron neutron capture therapy of brain tumors: an emerging therapeutic modality // Neurosurgery. – 1999. – Vol. 44. – P. 433–450.

**2.** *Сиваев И.Б., Брегадзе В.И.* Борнейтронозахватная терапия рака. Химический аспект. // Российский химический журнал. – 2004. Т. XLVIII. – № 4. С. 109–125.

**3.** *Toole B.P.* Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue // Nat. Rev. Cancer. – 2004. – Vol. 4. – P. 528–539.

**4.** *Choia K.Y., Saravanakumarc G., Parkc J.H., Parka K.* Hyaluronic acid-based nanocarriers for intracellular targeting: Interfacial interactions with proteins in cancer // Colloids Surf. B: Biointerfaces. – 2012. – Vol. 99. – P. 82–94.

**5.** *Stamenkovic I., Amiot M., Pesando J.M., Seed B.* A lymphocyte molecule implicated in lymph node homing is a member of the cartilage link protein family // Cell. – 1989. – Vol. 56. – P. 1057–1062.

**6.** *Stamenkovic I., Aruffo A., Amiot M., Seed B.* The hematopoietic and epithelial forms of CD44 are distinct polypeptides with different adhesion potentials for hyaluronate-bearing cells // EMBO. – 1991. – Vol. 10. – P. 343–348.

**7.** *Хабаров В.Н., Бойков П.Я., Селянин М.А.* Гиалуроновая кислота: получение, свойства, применение в биологии и медицине // Практическая медицинА. М. – 2012. – 224 с.

**8.** *Волков В.П., Зеленецкий А.Н., Иванов П.Л. и др.* Способ получения борсодержащей гиалуроновой кислоты // Патент 2445978 РФ. 2012.Experimental study of biological effects of the gel material «BORGIAL»

*A.V. Karamysheva[1], G.V. Son[1], I.A. Maklakova[1], N.M. Perova[1], S.A. Uspenskiy[2], P.L. Ivanov[2], V.N. Khabarov[2], M.A. Selyanin[2]*

[1]All-Russian Scientific and Research Organization for Medical Engineering. 115522, Moscow
[2]International Research Centre «Martinex», 111123, Moscow, Russian Federation

Experimental studies of the biological action of a domestic preparation based on of hyaluronic acid (HA) and boron were performed in white rats. It was established that the drug did not have adverse effects on animals. Haematological, biochemical, and other indicators characterizing the state of systems and organs in animals exposed to neutron capture therapy did not show statistically significant differences from those of the control. Based on the first stage of the studies, the use of this non-toxic compound could be suggested for solving problems of neutron capture therapy.

***Key words:*** *hyaluronic acid, boron, neutron capture therapy, toxicity.*

Материал поступил в редакцию 23.04.2013 г.

УДК: 614.35:[615.273:615.9]: 613.63

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И ГИГИЕНИЧЕСКАЯ РЕГЛАМЕНТАЦИЯ L-ЛИЗИНА ЭСЦИНАТА В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

*Б.П. Кузьминов, Т.С. Зазуляк, А.И. Галушка, О.И. Грушка, И.Б. Паздерская*

Львовский национальный медицинский университет им. Данилы Галицкого Минздрава Украины. 79010, г. Львов, Украина

Проведена токсикологическая оценка противоотечного препарата – L-лизина эсцината. Установлено, что L-лизина эсцинат относится к веществам умеренно опасным, обладает резорбтивно-токсическим и слабым местно-раздражающим эффектами при попадании на кожу, вызывает выраженное раздражение слизистых оболочек глаз, проявляет слабую кумулятивную активность, не создает реальной опасности развития отдаленных эффектов воздействия. ПДК L-лизина эсцината в воздухе рабочей зоны производственных помещений утверждена на уровне 2,0 мг/м$^3$, аэрозоль, III класс опасности, с отметкой + «требует специальной защиты глаз».

***Ключевые слова****: L-лизина эсцинат, токсикологическая оценка, ПДК в воздухе рабочей зоны.*

**Введение.** В XXI столетии успехи в разработке лекарственных средств связаны не только с синтезом новых химических соединений, но и, в значительной степени, с улучшением свойств существующих препаратов, в том числе путем создания новых лекарственных форм с направленной доставкой к органу-мишени и контролируемой связью фармакона с рецептором [1, 2]. Перспективным в разработке подобных лекарственных

*Кузьминов Борис Павлович (Kuzminov Boris Pavlovich)*, д.м.н., проф., заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией и лабораторией промышленной токсикологии Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого (Украина), bkuzminov@yandex.ru.
*Зазуляк Татьяна Степановна (Zazulyak Tetyana Stepanovna)*, к.б.н., с.н.с.Центральной научно-исследовательской лаборатории и лаборатории промышленной токсикологии Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого (Украина),TetyanaZazulyak@gmail.com.
*Галушка Александр Иванович (Galushka Aleksandr Ivanovich)*, с.н.с. Центральной научно-исследовательской лаборатории и лаборатории промышленной токсикологии Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого (Украина), toxcentr@rambler.ru.
*Грушка Оксана Ивановна (Grushka Oksana Ivanovna)*, научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории и лаборатории промышленной токсикологии Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого (Украина), toxcentr@rambler.ru.
*Паздерская Ирина Богдановна (Pazderskaya Irina Bogdanovna)*, научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории и лаборатории промышленной токсикологии Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого (Украина), toxcentr@rambler.ru.

форм является подход, базирующийся на молекулярном комплексообразовании протеиногенных аминокислот с тритерпеновыми гликозидами. Это позволяет улучшить биодоступность, повысить селективность и обеспечивает существенное снижение терапевтической дозы препарата при сохранении высокой активности [3].

С помощью этого подхода впервые на Украине создан препарат под запатентованным названием «L-лизина эсцинат» («L-lysine aescinat», код АТС С05 СХ 03), выпускающийся корпорацией «Артериум» на мощностях АООТ «Галичфарм» (г. Львов) [4]. Активно-действующим веществом препарата является водорастворимая соль эсцина (смеси тритерпеновых сапониновых гликозидов из плодов каштана конского) и аминокислоты лизина [5].

L-лизина эсцинат обладает противовоспалительным, противоотечным и обезболивающим действием. Препарат назначают при посттравматических, интра- и послеоперационных отеках любой локализации, сотрясениях мозга и при нарушении венозного кровообращения [6, 7, 8, 9].

Учитывая характеристику терапевтического эффекта и отсутствие полных аналогов L-лизина эсцината на мировом фармацевтическом рынке, можно предвидеть активное внедрение препарата в клиническую практику через увеличение объемов его производства на отечественных предприятиях.

Промышленное производство лекарственных препаратов обуславливает необходимость эффективной профилактики их воздействия на организм работающих с проведением токсикологической оценки и обоснованием допустимого уровня содержания в воздухе рабочей зоны [10].

В связи с этим *целью работы* была токсикологическая оценка L-лизина эсцината и разработка гигиенического регламента допустимого содержания его в воздухе рабочей зоны.

**Материалы и методы исследования.** Иследования проведены на 4 видах лабораторных животных (крысах, мышах, морских свинках, кроликах) в соответствии с методическими указаниями [11, 12, 13].

Параметры токсичности L-лизина эсцината устанавливали при ингаляционном, интраназальном, пероральном, внутрибрюшинном и перкутанном воздействии препарата на организм подопытных животных.

Иммунотоксическое действие L-лизина эсцината изучали в соответствии с методическими рекомендациями [14].

Влияние L-лизина эсцината на репродуктивную функцию исследовали с учетом гонадотоксического и эмбриотоксического эффектов [15].

Для оценки токсичности L-лизина эсцината на альтернативных тест-системах использовали ветвистоусых рачков Daphnia magna Straus и сперматозоиды быка.

При обосновании гигиенического регламента допустимого содержания L-лизина эсцината, в соответствии с методическими указаниями [16], принимали во внимание реальные уровни загрязнения препаратом воздуха рабочей зоны, которые определяли на рабочих местах технологической линии производства вещества (АООТ «Галичфарм», г. Львов) при помощи разработанной нами фотометрической методики [17].

**Результаты и обсуждение.** При пероральной затравке белых крыс и белых мышей L-лизина эсцинат вызывал поражение центральной нервной системы. Гибель животных проходила преимущественно на 1–2-е сутки эксперимента. Наиболее чувствительными к воздействию L-лизина эсцината были белые мыши, для которых $DL_{50}$ составила 182 мг/кг. Этот показатель для белых крыс находился на уровне 770–815 мг/кг (III клас опасности – вещества умеренно опасные, ГОСТ 12.1.007-76).

Использование парентерального пути введения вызывало аналогичную клиническую картину острого отравления, однако гибель животных проходила в первые сутки. $DL_{50}$ L-лизина эсцината при внутрибрюшинном введении составила 16,2–18,2 мг/кг и свидетельствует об умеренной токсичности (III клас токсичности) при этом пути введения.

После интратрахеального введения 50 мг L-лизина эсцината у морских свинок наблюдалась адинамия и нарушение ритма дыхания.

Однократное ингаляционное воздействие препарата в концентрациях 122,8 мг/м$^3$ и 51,6 мг/ м$^3$ не вызывало гибели белых крыс, однако приводило к развитию клинической картины острого отравления, в которой преобладали симптомы раздражающего действия.

Биохимическими исследованиями выявлено влияние L-лизина эсцината на мочевыделительную систему, при этом пороговая концентрация препарата находилась на уровне 51,6 мг/м$^3$.

Исследование местно-раздражающего эффекта по стандартным методикам засвидетельствовало наличие у L-лизина эсцината выраженного повреждающего действия (9 баллов) на слизистые оболочки. При попадании на кожу препарат вызывал слабое раздражающее действие (1 балл), однако проявлял резорбтивно-токсический эффект.

Проведение подострого эксперимента с введеним нарастающих доз соединения выявило слабый кумулятивный эффект L-лизина эсцината, проявления раздражающего действия и поражение центральной нервной системы.

Введенние на протяжении 30 дней препарата в дозах 1/10, 1/50 и 1/250 $DL_{50}$. приводило к проявлениям общетоксического действия, что засвидетельствовано биохимическими исследованиями.

В хроническом эксперименте L-лизина эсцинат осуществлял преимущественное влияние на мочевыделительную систему, при этом гибели животных и клинических симптомов интоксикации не зафиксировано. Пороговая концентрация препарата, при которой проходили статистически достоверные изменения показателей, находилась на уровне 18 мг/м$^3$.

При изучении гонадотоксического действия L-лизина эсцината с внутрижелудочным введением на протяжении 72 дней в дозах 1/50 $DL_{50}$ и 1/250 $DL_{50}$. установле-

но отсутствие статистически достоверных изменений морфометрических и функциональных показателей сперматогенеза белых крыс. Отмечена тенденция снижения осмотической и кислотной резистентности, а также окислительно-восстановительных процессов в сперматозоидах крыс подопытных групп в сравнении с контролем.

Затравка беременных самок на протяжении 21 дня беременности препаратом в дозах 1/50 $DL_{50}$ и 1/250 $DL_{50}$. не оказывала влияния на эмбриогенез, показатели доимплатационной, постимплатационной и общей эмбриональной летальности.

По данным литературы [18] в тесте на индукцию аберраций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека in vitro и в тесте Эймса мутагенной активности препарата не вывлено. Это, в совокупности с полученными экспериментальными данными, позволяет утверждать, что L-лизина эсцинат не создает реальной опасности развития отдаленных эффектов воздействия.

При внутрикожной сенсибилизации морских свинок L-лизина эсцинатом не выявлено достоверных изменений в периферической крови животных. Препарат не влиял на показатели клеточного и гуморального звеньев врожденного и приобретенного иммунитета. Выявлено нарушение численности иммунорегуляторных клеток, что при длительном контакте с препаратом может обуславливать развитие аутоиммунных процесов у работающих.

Исследования на альтернативных тест-системах засвидетельствовали слабую либо умеренную (в зависимости от концентрации) токсичность L-лизина эсцината на организменном уровне (жизнедеятельность дафний).

Установлено цитотоксическое влияние, которое характеризуется сниженной интенсивностью окислительных процессов, вероятно, снижением функционирования звена дыхания митохондрий и ресинтеза АТФ, что обусловливает потерю подвижности и уменьшение длительности выживания сперматозоидов быка. Это корелирует с данными, полученными при изучении гонадотоксического действия на крысах.

В условиях производства L-лизина эсцинат может поступать в воздух рабочей зоны, попадать на кожу, слизистые оболочки и загрязнять спецодежду работающих на стадиях взвешивания исходного компонента и загрузки в реактор. Во время работы реактора возможно загрязнение препаратом воздушной среды через сальники мешалок и фланцевые соединения. Максимальные концентрации L-лизина эсцината в воздухе рабочей зоны достигали 1,7 мг/м$^3$.

Для обоснования предельно допустимой концентрации L-лизина эсцината в воздухе рабочей зоны на основании полученных экспериментальных данных был рассчитан коэффициент запаса по методике К.К. Сидорова [19], который составил 8.

Принимая во внимание установленные параметры токсичности, величину порога хронического ингаляционного действия (18,0 мг/м$^3$), коэффициент запаса, ориентировочный безопасный уровень воздействия [20], предельно допустимая концентрация L-лизина эсцината в воздухе рабочей зоны рекомендована на уровне 2,0 мг/м$^3$, аэрозоль, III класс опасности, с отметкой + «требует специальной защиты глаз».

**Выводы.** 1. L-лизина эсцинат по параметрам токсичности относится к веществам умеренно опасным – III класс опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76. Обладает резорбтивно-токсическим и слабым местно-раздражающим эффектами при попадании на кожу, вызывает выраженное раздражение слизистих оболочек глаз, проявляет слабую кумулятивную активность.

2. L-лизина эсцинат не создает реальной опасности развития отдаленных эффектов воздействия, однако существует возможность развития аутоиммунных процессов у работающих при длительном контакте с токсикантом.

3. Разработана и утверждена МЗ Украины предельно допустимая концентрация L-лизина эсцината в воздухе рабочей зоны производственных помещений – 2,0 мг/м$^3$, аэрозоль, III класс опасности, с отметкой + «требует специальной защиты глаз».

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** *Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А.* На пути к низкодозовым лекарствам. Вестник Российской академии наук. 2007; 77 (10). С. 867–874.

**2.** *Хвостов М.В., Толстикова Т.Г., Брызгалов А.О., Лифшиц Г.И., Метелева Е.С., Душки А.В.* Клатрирование фармаконов – эффективный путь создания низкодозных лекарственных препаратов // Материалы III Всероссийской конференции «Новые достижения в химии и химической технологи растительного сырья». Барнаул, 2007; Кн. 2. С. 73–77.

**3.** *Яковишин Л.А., Гришковец В.И., Кравчук Ж.Н., Микитина В.Н.* ИК-фурье-спектроскопия межмолекулярного взаимодействия эсцина с L-лизином. Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. 2012; 25 (64). С. 320–326.

**4.** *Шовковий А.В.* Розробка методів аналізу нових біологічно активних сполук у ряду похідних амінокислот для стандартизації лікарських засобів на їх основі: Автореф. дис. … канд. фарм. наук. Харків; 1999.

**5.** *Куцик Р.В., Зузку Б.М., Дьячок В.А.* Каштан конський (Aesculus hippocastanum L.). Провізор. 2002; 5. С. 36–40.

**6.** *Поворознюк В.В., Шеремет О.Б.* Использование L-лизина эсцината в реабилитации больных с остеохондрозом пояснично-крестцового отдела позвоночника. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2003; 3. С. 25–29.

**7.** *Спасиченко П.В.* Лечение больных с тяжелой черепно-мозговой травмой с применением L-лизина эсцината. Український нейрохірургічний журнал. 2003; 4 (24). С. 33–41.

**8.** *Сапон Н.А., Спасиченко П.В.* Применение препарата L-лизина эсцинат в нейрохирургии, неврологии, травматологии и ортопедии. Новости медицины и фармации. 2004; 10-11. С. 3–5.

**9.** *Усенко Л.В., Криштафор А.А., Слива В.И., Неживая Ю.С.* Противоотечная терапия в спинальной нейрохирургии. Медицина неотложных состояний. 2006; 4. С. 3–6.

**10.** *Трахтенберг И. Краснокутская Л., Короленко Т., Омельянец Т., Кудря М.* Принципы и методы определения допустимого содержания химических веществ в воздухе химико-фармацевтических предприятий. Вісник фармакології та фармації. 2007; 10. С. 50–55.

**11.** Методические указания (МУ № 1.1.726-98 от 12.1998) «Гигиеническое нормирование лекарственных средств в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и воде водных объектов». М., 1999.

**12.** Методические указания (МУ № 2102-79 от 01.11.1979) «Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи». М., 1980.

**13.** Методические указания (МУ № 2196-80 от 11.08.1980) «Методические указания к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны». М., 1980.

**14.** Методические указания (МУ № 1.1.578-96 от 21.10.1996) «Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы». М., 1997.

**15.** Методические указания (МУ № 1744-77 от 10.07.1977) «Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования». М., 1978.

**16.** Методические указания (МУ № 3138-84) «Методические указания к проведению исследований на производстве при обследовании, проверке и корректировке предельно допустимых концентраций (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». М., 1984.

**17.** *Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Грушка О.І.* Фотометрична методика вимірювання концентрації L-лізину есцинату у повітрі робочої зони. Довкілля та здоров'я. 2008; 2. С. 50–52.

**18.** *Болтина И.В., Костик Е.Л., Лепешкин И.В., Кокшарева Н.В., Колянчук Я.В., Кузьменко А.Е. и др.* Сучасні проблеми токсикології. 2011; 4. С. 52–57.

**19.** Методические указания (МУ № 4000-85 от 04.11.85) «Методические указания по установлению ОБУВ вредных веществ в воздухе рабочей зоны». М., 1985.

**20.** *Кузьмінов Б.П., Грушка О.І., Зазуляк Т.С.* Обгрунтування орієнтовно безпечного рівня впливу L-лізину есцинату у повітрі робочої зони. Вестник гигиены и эпидемиологии. 2009; 13 (1). С. 143–146.



*B.P. Kuzminov, T.S. Zazulyak, A.I. Galushka, O.I. Grushka, I.B. Pazderskaya*


**Toxicological evaluation and hygiene regulation of L-Lysine aescinat at the workplace**


Lviv Medical National University by Danylo Halitsky, Ministry of Health of Ukraine. 79010, Lviv



A toxicological evaluation of a decongestant L-Lysine aescinat was performed. It was found out that L-Lysine aescinat refers to moderately hazardous substances, produces resorptive and toxic, mild local irritation effects on skin, expressed irritation effect on eye mucosa, shows a mild cumulative activity and does not pose an actual hazard of the development of delayed effects. MAC of L-Lysine aescinat in occupational air is adopted at the level of 2.0 mg/m$^3$, aerosol, hazard class 3 with a note +«requires a special eye protection»



***Key words:*** *L-Lysine, aescinat, toxicological evaluation, MAC in occupational air*

Материал поступил в редакцию 08.08.2013 г.

# ДИСКУССИЯ

УДК 615.9: 541

# КОМПЛЕКСНАЯ СИСТЕМА ПРОГНОЗА ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ВЕЩЕСТВ, ОСНОВАННАЯ НА ИСПОЛЬЗОВАНИИ СООТНОШЕНИЙ СТРУКТУРА–БИОТРАНСФОРМАЦИЯ–ТОКСИЧНОСТЬ

*З.И. Жолдакова,*
*Н.В. Харчевникова*

ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» Минздрава России, 119992, г. Москва

Разработана комплексная версия интеллектуальной ДСМ-системы, в которой стандартная система дополнена квантово-химическим модулем генерации метаболитов и расчета их электронных параметров, а в ДСМ-рассуждения включен анализ числовых параметров. Таким образом, комплексная система основана на совмещении логико-комбинаторных методов и методов квантовой химии, используемых для моделирования процессов взаимодействия веществ с организмом и в частности процессов биотрансформации под действием ферментных систем. Алгоритм системы проиллюстрирован на примере прогноза канцерогенности алифатических галогензамещенных алканов.

***Ключевые слова:*** *прогноз токсичности и опасности, биотрансформация, квантово-химические параметры.*

Оценка эколого-гигиенической безопасности химических веществ в эксперименте и установление безопасных уровней воздействия в различных объектах окружающей среды являются неотъемлемой частью гигиенических исследований. Как известно, в мире в настоящее время зарегистрировано около ста тысяч химических веществ, используемых в производстве и потреблении, и ежегодно в этот список добавляется более 1000 соединений [1, 2]). В токсикологическом плане изучено лишь 15% из них, а гигиенические нормативы для разных объектов среды обитания установлены только для примерно двух тысяч веществ. Объем исследований на лабораторных животных, необходимых для полной токсикологической оценки всех веществ, таков, что задача оценить все соединения практически невыполнима. Кроме того, общественность требует соблюдения правил экспериментов на животных, сформулированных в концепции «трех R» [3]. В связи с этим очевидна необходимость развития альтернативных методов оценки токсичности и опасности веществ. Эксперименты на клеточных культурах *in vitro* не позволяют оценить все виды эффектов с учетом сложных процессов интоксикации *in vivo* при длительном воздействии веществ [4]. Как показано в работах Г.Н. Красовского и соавт. [5, 6], результаты исследований на живых организмах более низкого филогенетического уровня нельзя экстраполировать на человека для определения безопасных уровней химических веществ.

В связи с этим весьма актуальным является совершенствование в России методов прогноза токсичности и опасности на основе соотношений структура–активность. Такие методы применяются в России, США, Канаде, Германии [7, 8 ] и других странах для выделения приоритетных веществ, для решения вопроса об объеме экспериментальных исследований вещества, для классификации, маркировки и регистрации.

Особенно важным является прогноз отдаленных эффектов, и в первую очередь – канцерогенного, из-за чрезвычайной опасности этих эффектов. Вместе с тем, исследование канцерогенных свойств, в частности проведение стандартного теста на канцерогенность в рамках NTP США требует проведения экспериментов на животных в течение двух лет и стоит около двух миллионов долларов. Именно поэтому в прошлом веке обоснование отечественных нормативов многих веществ в объектах окружающей среды проводили без учета канцерогенного действия.

Жолдакова Зоя Ильинична (Zholdakova Zoya Ilyinichna), ведущий научный сотрудник лаборатории эколого-гигиенического нормирования ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина» Минздрава России, labtox430@mail.ru
Харчевникова Нина Вениаминовна (Kharchevnikova Nina Veniaminovna), старший научный сотрудник лаборатории эколого-гигиенического нормирования ФБГУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина» Минздрава России, labtox430@mail.ru

Прогноз параметров токсикометрии применительно к обоснованию нормативов веществ в воде впервые осуществлен Г.Н. Красовским и Н.А. Егоровой с использованием моделей Ханча и Фри-Вильсона [9, 10]. Затем была изучена возможность применения различных физико-химических параметров для прогноза острой и хронической токсичности веществ [11, 12] корреляционно-регрессионных моделей. В этих исследованиях, основанных на эмпирическом выборе независимых переменных для получения наиболее достоверных связей, недостаточно учитывался механизм действия веществ. Разработанный в дальнейшем [13] подход с учетом патогенетической модели интоксикации был первым шагом к построению моделей структура–активность с учетом механизма токсического действия на молекулярном уровне.

Проблема ускорения и повышения эффективности токсикологических исследований может быть решена при использовании современных информационных технологий, в частности прогнозирующих, и экспертных систем [14–18] с применением различных методов интеллектуального анализа данных. Одним из таких методов является логико-комбинаторный метод ДСМ [19], основанный на автоматизированном поиске подструктур молекул, отвечающих за наличие эффекта или принадлежность соединения к определенному классу опасности по этому эффекту. ДСМ-метод позволяет не только сделать прогноз наличия и степени выраженности эффекта, но и объяснить его, т.е. выявить структурные фрагменты, присутствие которых в молекуле определяет эффект. Однако при проведении прогноза с использованием ДСМ-системы не учитывалась возможность биоактивации, что, возможно, явилось одной из причин недостаточной полноты прогноза. Учет возможности биоактивации соединений в процессе биотрансформации в организме при прогнозе токсичности и опасности с использованием логико-комбинаторного метода ДСМ представлял собой нерешенную проблему.

Необходимо отметить, что в России не разработаны доступные компьютерные системы по прогнозу токсичности и опасности веществ в объектах окружающей среды. В связи с этим была разработана комплексная версия интеллектуальной ДСМ-системы, в которой стандартная система дополнена квантово-химическим модулем генерации метаболитов и расчета их электронных параметров, а в ДСМ-рассуждения включен анализ числовых параметров. Таким образом, комплексная система основана на совмещении логико-комбинаторных методов и методов квантовой химии, используемых для моделирования процессов взаимодействия веществ с организмом и в частности процессов биотрансформации под действием ферментных систем.

Разработано также сопряжение ДСМ-системы с созданной нами базой данных WATERTOX «Эколого-гигиенические свойства химических веществ, загрязняющих окружающую среду (токсичность и опасность веществ)», номер регистрации 0229601490 в государственном регистре баз данных [20], и базой данных по канцерогенности CPDB [21], что дает возможность формировать обучающую выборку для прогноза класса опасности по острой и хронической токсичности, а также класса опасности по канцерогенному эффекту. В основу структуры базы данных WATERTOX легли показатели разработанной ранее [22] формы аннотационных карт опасности химических веществ. Информацию по веществу можно разделить на следующие блоки:

• блок идентификационной информации, содержащий название вещества, синонимы и товарные наименования, регистрационные номера, в частности номер по CAS;

• блок информации о физико-химических свойствах вещества;

• блок информации, содержащий данные об органолептических свойствах и данные по влиянию на процессы самоочищения водоемов, блок информации по токсичности для гидробионтов и млекопитающих в острых, подострых и хронических опытах (смертельные, пороговые и безвредные дозы);

• блок информации по специфическим и отдаленным эффектам вещества (пороговые и максимальные недействующие дозы вещества по данному виду эффекта, класс по МАИР; информация по нормативам в объектах окружающей среды.

Для сопряжения базы данных WATERTOX с ДСМ системой был реализован ее перевод из DBF-формата (кодировка DOS) в MDB-формат (кодировка Windows). Доступ к базе данных осуществляется через технологию Microsoft ADO, что позволяет реализовать ее использование в Сети.

Создана программа для формирования файла свойств при создании выборки из базы данных WATERTOX. Набор свойств, в простейшем случае «+» и «-», характеризует отнесение соединения к определенному классу опасности. Предусмотрен прогноз класса опасности по острой токсичности (по величине $ЛД_{50}$ для крыс и мышей) и хронической токсичности (по величине $ПК_{хр}$ и $МНК_{хр}$.).

Алгоритм системы приведен на рисунке 7. Если для структурного ряда, к которому относится тестовое соединение, разработана модель, т.е. определены физико-химические параметры, в частности параметры, характеризующие процессы биотрансформации, проводится расчет этих параметров в соответствии с используемой моделью по программам, интегрированным в систему, и значение параметра добавляется к файлу параметров, а файл описания структуры – в директорию эксперимента. В случае, если соединение относится к неизученному ряду, подбирается обучающая выборка из баз данных по токсичности и опасности WATERTOX или канцерогенности (CPDBase) и осуществляется стандартный компьютерный ДСМ-эксперимент с анализом сходства структур соединений. Развитие системы заключается в расширении количества структурных рядов и видов эффектов, для которых в соответствии с определяющей стадией механизма токсического действия разработаны модели прогноза структура–биотрансформация–токсичность и определены числовые параметры.

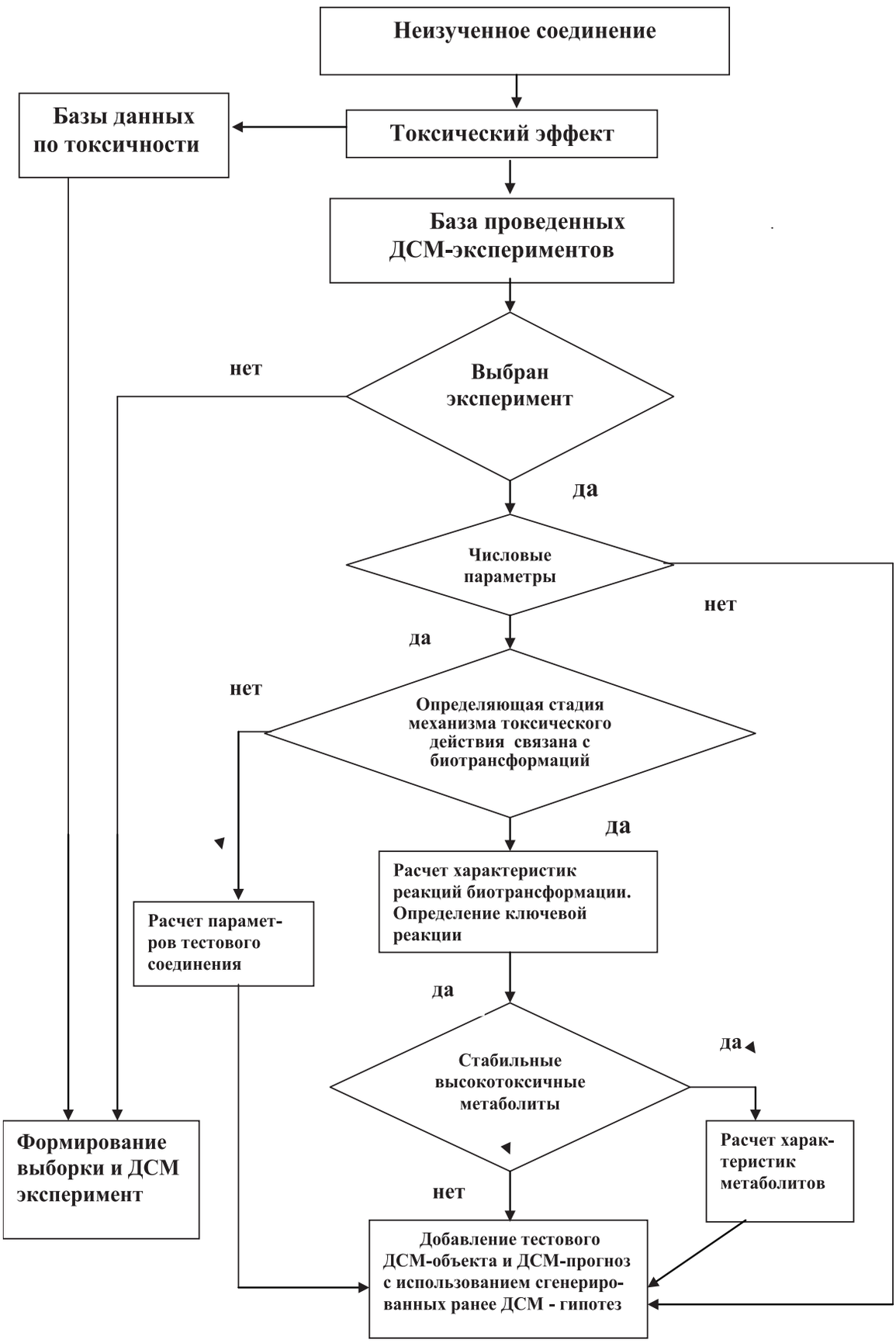



**Рис. 1.** Алгоритм системы прогноза токсичности и опасности химических веществ.

Для расчета электронных параметров соотношений структура–биотрансформация–токсичность разработано сопряжение ДСМ-системы и баз данных с квантово-химическими программами расчета электронных параметров. Для каждого вида эффекта и каждого структурного ряда параметры специфичны и определяются гипотезой о ключевой реакции взаимодействия вещества с организмом.

Возможность использования того или иного квантово-химического метода также определяется спецификой структурного ряда.

Метод Хюккеля интегрирован в ветвь системы, предназначенную для прогноза наличия и степени выраженности канцерогенного эффекта.

Для расчета параметров соединений, не имеющих системы сопряженных связей, и в том случае, когда возможность биоактивации зависит от конформации молекулы вещества или его метаболитов, применяют полуэмпирические квантово-химические методы.

Сопряжение с программой, реализующей полуэмпирический метод, может быть проиллюстрировано на примере модели для прогноза канцерогенности галогенированных алканов [23, 24]. Согласно гипотезе о ключевой реакции биотрансформации [24] соединений этого ряда и ее связи с канцерогенностью, для тестового соединения рассчитывается разность теплот образования радикалов, получающихся при отрыве атома водорода от всех неэквивалентных по симметрии атомов углерода молекулы, и теплоты образования исходного соединения. Эта разность характеризует энтальпию активации. Минимальное значение энтальпии определяет положение биотрансформации. Гипотеза состоит также в том, что если это минимальное для данной молекулы значение больше 27 ккал/моль, соединение не подвергается метаболизму и не будет канцерогеном. В противном случае строится структура метаболита и рассчитывается энергия нижней свободной молекулярной орбитали метаболита. Разность теплот образования радикала и исходного соединения и энергия нижней свободной молекулярной орбитали метаболита используются в качестве параметров при ДСМ-эксперименте по прогнозу канцерогенности.

Расчеты производятся с использованием построенного в химическом редакторе файла описания структуры, затем проводится минимизация геометрии методом молекулярной механики и полуэмпирическим методом AM1. Результирующее значение теплоты образования исходной молекулы, рассчитанное этим методом, запоминается. Затем моделируется отрыв атомов водорода путем соответствующего изменения файла описания структуры. Теплота образования получившихся радикалов рассчитывается неограниченным методом Хартри-Фока. Положение отрыва атома водорода, соответствующее минимальному значению энтальпии активации, однозначно определяет структуру карбонильного метаболита. Нахождение минимального значения энтальпии активации, построение структуры метаболита, соответствующего минимальной энергии активации, расчет энергии нижней свободной молекулярной орбитали метаболита и добавление параметров во входной файл ДСМ-системы происходят автоматически.

Результатом является прогноз значения свойств (+/-), что означает прогноз отнесения соединения к определенному классу по канцерогенности.

Система содержит результаты ДСМ-экспериментов для определенных структурных рядов и различных токсических эффектов, т.е. гипотезы, сгенерированные на обучающих выборках из соединений этих структурных рядов. В настоящее время разработаны и внесены в систему модели для прогноза класса опасности по канцерогенной и мутагенной активности, острой и хронической токсичности, метгемоглобинобразованию.

Основное положение нашего подхода – необходимость понимания механизма токсического действия на молекулярном уровне для построения соотношений структура–токсичность – разделяется в настоящее время большинством исследователей.

Исследования, проведенные с использованием данной системы, позволил сделать вывод о безусловной важности учета механизма токсического действия и процессов биотрансформации для прогноза токсичности и опасности химических соединений и адекватности применения методов квантовой химии и логико-комбинаторного анализа для целей прогноза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** National Toxicology Program, NTP// URL: http://ntp.niehs.nih.gov/go/pubs.
**2.** *Хамидулина Х.Х.* Международная стратегия химической безопасности и пути ее реализации// Токсикологический вестник. – 1998. – № 4. – С. 4–8.
**3.** *Russell W.M.S., Burch R.L.* The Principles of Humane Experimental Technique. URL: http://altweb.jhsph.edu/publications/humane_exp/het-toc.htm.
**4.** Bhogal N., Grindon C., Combes R., Balls M. Toxicity testing: creating a revolution based on new technologies.// Trends Biotechnol. – 2005. – Vol. 23. - № 6. – P. 299–307.
**5.** *Красовский Г.Н., Егорова Н.А.* Методологические ошибки использования биологического тестирования в гигиенических исследованиях // Гигиена и санитария. – 2000. – № 4. – С. 64–66.
**6.** *Красовский Г.Н., Рахманин Ю.А., Егорова Н.А.* Экстраполяция токсикологических данных с животных на человека // М.: Медицина, 2009. – 208 с.
**7.** *Cronin M.T.D., Jaworska J. S., Walker J.D., Comber M.H.I., Watts C.D., Worth A. P.* Use of QSARs in international decision-making frameworks to predict health effects of chemical substances // Environ. Health Perspect. – 2003. – Vol. 111. – P. 1391–1401.
**8.** Walker J.D. QSARs for identifying and prioritizing substances with persistence and bioconcentration potential.// SAR QSAR Environ. Res. – 2002. – Vol. 13. – P. 713-725.
**9.** *Егорова Н.А.* Прогнозирование параметров токсичности отдельных групп химических соединений на основе зависимостей «структура–активность».// Гигиена и санитария. – 1980. – № 11. – С. 82–84.
**10.** *Красовский Г.Н., Егорова Н.А.* Перспективы развития методов прогноза безвредных уровней веществ на основе зависимостей структура–активность. //Вестник АМН СССР. –1980. – № 7. – С. 55–88.
**11.** *Жолдакова З.И.* Молекулярная коннективность и острая токсичность веществ // Гигиена и санитария. – 1986. – № 7. С. 18–19.
**12.** *Жолдакова З.И.* Прогноз токсичности веществ в воде на основе зависимостей структура–активность// Гигиена и санитария. – 1987. – № 7. – С. 9–13.
**13.** *Жолдакова З.И.* Методические основы ускоренного гигиенического нормирования веществ в воде. Дисс …. докт. мед. наук. – М., 1989. – 453 с.
**14.** *Klopman G., Multicase 1.* A hierarchical computer automated structure evaluation program.// Quant. Struct. – Act. Relat. – 1992. – Vol. 11. – P. 176–184.
**15.** *Klopman G.* The MultiCASE program II. Baseline activity identification algorithm (BAIA). // J. Chem. Inf. Comput. Sci. – 1998. – Vol. 38, № 1. – P. 78–81.
**16.** *Ridings J.E., Barratt M.D., Cary R., Earnshaw C.G., Eggington C.E., Ellis M.K., Judson P.N., Langowski J.J., Marchant C.A., Payne P., Watson W.P., Yih T.D.* Computer prediction of possible toxic action from chemical structure – an update on the DEREK system. //Toxicol. – 1996. – Vol. 106. – P. 267–279.
**17.** *Enslein K., Gombar V.K., Blake B.W.* Use of SAR in computer-assisted prediction of carcinogenicity and mutagenicity of chemicals by the TOPKAT program. Mutat. Res. – 1994. – Vol. 305. – P. 47–61.
**18.** *Mekenyan O., Dimitrov S., Schmeider P., Veith G.* In Silico Modeling of Hazard Endpoints: Current Problems and Persperctives// SAR QSAR Environ. Res. – 2003. – Vol. 14. – P. 361–371.
**19.** *Финн В.К.* Правдоподобные рассуждения в интеллектуальных системах типа ДСМ // Итоги науки и техники. ВИНИТИ. Сер. Информатика. – М., 1991. – Т. 15. – С. 54–101.
**20.** *Жолдакова З.И., Харчевникова Н.В., Журков В.С., Фельдт Е.Г.* Методические основы развития банка данных по эколого-гигиеническим свойствам химических веществ, загрязняющих окружающую среду // Гигиена и санитария. – 1995. – № 2. – С. 27–30.
**21.** Carcinogenic Potency Database (CPDB). University of California, USA. URL: http-potency.berkeley.edu/
**22.** *Красовский Г.Н., Жолдакова З.И., Егорова Н.А.* Методические основы ускоренного гигиенического нормирования вредных веществ в воде. // Проблема пороговости в токсикологии. Сборник научных трудов НИИ О и КГ им. А.Н. Сысина АМН СССР/ Под ред. проф. Г.Н. Красовского. – М., 1979. – С. 27–51.
**23.** *Харчевникова Н.В., Блинова В.Г.* Прогнозирование токсичности химических соединений посредством ДСМ-метода // Научно-техническая информация. Серия 2. Информационные процессы и системы. – 2007. – № 12. – С. 10–15.
**24.** *Харчевникова Н.В., Блинова В.Г., Добрынин Д.А., Максин М.В., Жолдакова З.И.* Применение ДСМ метода и квантовохимических расчетов для прогноза канцерогенности и хронической токсичности галогензамещенных алифатических углеводородов // Автоматическое порождение гипотез в интеллектуальных системах. / Под ред. В.К. Финна. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2009. – С. 322–335.
**25.** *Жолдакова З.И., Харчевникова Н.В.* Количественная зависимость между структурой и активностью ксенобиотиков при их биотрансформации. // Общая токсикология. / Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – С. 76–88.


*Z.I. Zholdakova., N.V. Kharchevnikova*

**A complex system for predicting substances toxicity and hazard based on the application of the structure-biotransformation - toxicity relationship**

A.N.Sysin Research Institute for Human Ecology and Environmental Health, RF Ministry of Health, 119992, Moscow, Russian Federation

A complex version of the computer-based intellectual predicting system was developed within which a standard system was completed with a quantum-chemical module for generating metabolites and calculating their electronic parameters and the computer-based intellectual predicting system -consideration was supplemented with an analysis of numeral parameters. That way, the complex system is based on the combination of logical-combinatorial methods and methods of quantum chemistry used to simulate interaction processes between substances and the organism and in particular biotransformation processes under the influence of enzymes systems. The system's algorithm is illustrated on the example of predicting carcinogenicity of aliphatic halogenated alkanes.

***Key words:*** *toxicity and hazard predicting, biotransformation, quantum-chemical parameters.*

Материал поступил в редакцию 11.10.2012 г.

# ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК: 628.394.6:57/59

# ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ИНГИБИТОРОВ КОРРОЗИИ АЗОЛ CI-130, АЗОЛ 5010 МАРКИ А И АЗОЛ 5010 МАРКИ В ДЛЯ ГИДРОБИОНТОВ

*А.С. Федотов*
Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП «ВНИРО»), 107140, г. Москва

Проведена оценка токсичности ингибиторов коррозии Азол CI-130, Азол 5010 марки А и Азол 5010 марки В для стандартных тест-объектов: фитопланктонных организмов – *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb; зоопланктонных организмов – *Daphnia magna* Straus и рыб, односуточных организмов (мальков) – *Poecillia reticulate Peters*. Для оценки токсического эффекта для гидробионтов использовали показатели медианных летальных концентраций ($ЛК_{50}$), характеризующие изменение выживаемости (гибель) организмов на 50% за определенное время – 24, 48 и 96 часов ($ЛК_{50}$/24; 48; 96ч). По результатам оценки токсичности препаратов установлено: ингибиторы коррозии «Азол CI-130» и «Азол-5010» марки В относятся к среднетоксичным, а ингибитор коррозии «Азол-5010» марки А к высокотоксичным веществам.

***Ключевые слова:*** *препараты, фитопланктон, зоопланктон, рыба, токсичность.*

**Введение.** В настоящее время планируются крупномасштабные разработки нефти и газа на шельфе морей России, особенно в районе северных и дальневосточных морей, а также Северного Каспия. В связи с этим необходимо знать как токсичность применяемых буровых растворов и их компонентов, так и токсичность веществ, используемых на платформах для различных технологических целей, поскольку существует реальная возможность попадания их в водоемы, что может нанести определенный ущерб водным биоресурсам. Поэтому необходима оценка токсичности применяемых химических веществ на водоемах, путем определения медианных летальных концентраций ($ЛК_{50}$), для сохранения водной экосистемы.

Задачей данной работы служила оценка токсичности ингибиторов коррозии «Азол CI-130», «Азол-5010» марки А и «Азол-5010» марки В для стандартных пресноводных тест-объектов: фитопланктонных организмов – *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb; зоопланктонных организмов – *Daphnia magna* Straus и рыб, односуточных организмов (мальков) – *Poecillia reticulate Peters*.

**Материалы и методы исследования.** Исследуемые препараты предназначены для защиты от коррозии напорных и выкидных трубопроводов, транспортирующих обводненные газожидкостные и нефтяные среды, содержащие сероводород и углекислый газ [2, 3, 4].

Исследование токсичности ингибиторов коррозии проводили в соответствии с «Руководством по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов» (утверждено МПР России, 27 апреля 2001 г.), изд. РЭФИ, НИА-Природа, М., 2002 [7]. Руководство включено в область аккредитации лаборатории.

Для исследований на фитопланктоне в качестве стандартного пресноводного тест-объекта использовали *Scenedesmus quadricauda* (Turh.) Breb – зеленые одноклеточные водоросли. Повторность в опыте и контроле трехкратная. Начальная плотность клеток в эксперименте 20 000 тыс. кл./мл. Длительность эксперимента 3 суток (72 ч), освещение 3000 лк, температура 20±2 °С, 12-часовой световой режим в климатостате.

Пригодность культуры одноклеточных водорослей

*Федотов Анатолий Сергеевич (Fedotov Anatoly Sergeevich),* с.н.с. лаборатории Эколого-токсикологических исследований, кандидат ветеринарных наук, anat-1954@mail.ru

для биотестирования определяли по величине $ЭК_{50}$ (48 ч) стандартного вещества $K_2Cr_2O_7$ для S.*quadricauda*. Полученное значение $ЭК_{50}$ $K_2Cr_2O_7$ – 1,8 мг/л, что укладывается в диапазон реагирования для данного вида водорослей (1,3–2,5 мг/л).

На фитопланктонных организмах в течение трех суток исследовали изменение флуоресценции клеток водорослей при различных концентрациях ингибиторов коррозии. Определяли полуэффективную концентрацию ($ЭК_{50}$ за 72 ч) трех марок ингибиторов коррозии [1]. Полуэффективная концентрация ($ЭК_{50}$) препарата вызывает изменение параметров жизнедеятельности фитопланктонных организмов (изменение численности клеток, изменение флуоресценции хлорофилла клеток и др.) на 50% за определенное время. Показатели жизнедеятельности микроводорослей оценивали экспресс-методом по изменению флуоресценции клеток водорослей на приборе «Флюорат 02-3М». Определение изменения численности клеток проводили в камере Горяева под микроскопом. Численность живых клеток водорослей коррелировала с показаниями флуоресценции водорослей. В эксперименте замеры флуоресценции клеток проводили ежедневно.

Для исследований на зоопланктонных организмах использовали стандартный пресноводный тест-объект – *Daphnia magna* Straus. В опыт брали односуточных рачков, длительность эксперимента – 2 и 4 суток (48 и 96 ч). В остром эксперименте рачков не кормили. Реакция на стандартное вещество: $ЛК_{50}$ $K_2Cr_2O_7$ за 24 ч составила 1,4 мг/л, что укладывается в диапазон реагирования дафний (0,9–2,0 мг/л).

Определяли полулетальные концентрации ($ЛК_{50}$/48 и 96 ч) трех марок ингибиторов коррозии [6]. Полулетальные концентрации ($ЛК_{50}$) вызывают изменение выживаемости зоопланктонных организмов (гибель) на 50% за 48 и 96 ч.

Для проведения ихтиотоксикологических исследований используется широко распространенная аквариумная живородящая рыбка *Poecillia reticulate* Peters – гуппи. В опыте использовали высокочувствительных односуточных мальков данных рыб. Исследование ингибиторов коррозии проводили в аквариальной, с использованием рассеянного света и естественного светового периода. Длительность биотестирования водной вытяжки составляла 4 суток (96 ч). Во время биотестирования рыб не кормили. Температура анализируемой пробы 20–22 °С, концентрация растворенного кислорода 8,6 мг/дм$^3$. Соотношение воды и ихтиомассы составляло менее 1,5 г/л, на каждую концентрацию приходилось по 10 экземпляров рыбок опытах и контроле.

Физиологическую активность рыб проверяли по стандартному веществу – калию двухромовокислому. $ЛК_{50}$ $K_2Cr_2O_7$ за 24 ч составила 127,0 мг/дм$^3$ (что укладывается в диапазон требуемых концентраций 106–175 мг/дм$^3$).

Определяли полулетальные концентрации ($ЛК_{50}$/96ч) трех марок ингибиторов коррозии [6]. Полулетальные концентрации ($ЛК_{50}$) вызывают изменение выживаемости односуточных мальков рыб (гибель) на 50% за 96 ч.

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

Степень острой токсичности трех марок ингибиторов коррозии для гидробионтов оценивали согласно классификации Л.А. Лесникова и К.К. Врочинского [5].

**Результаты и обсуждение.** Согласно представленным в таблице 1 данным видно, что концентрация ингибитора коррозии «Азол CI-130» 50,0 мг/л не влияет на жизнедеятельность фитопланктона, показатели его жизнедеятельности отмечены на уровне контроля в течение 3 суток. В концентрации препарата 100 мг/л подавление уровня флуоресценции отмечено на 2-е и 3-и сутки опыта и составило, соответственно, 4 и 7%. Концентрация ингибитора коррозии 500,0 мг/л снижает на 3-е сутки опыта флуоресценцию на 17%, концентрация 1000,0 мг/л – на 31%, концентрации 2000,0 мг/л – на 68%.

Расчетная полуэффективная концентрация «Азол CI-130» за трое суток ($ЭК_{50}$/72 ч) равна 1737,8 мг/л. Ингибитор коррозии «Азол 5010» марки А в концентрациях 1,0 и 5,0 мг/л не влияет на жизнедеятельность фитопланктона. Показатели его жизнедеятельности отмечены на уровне контроля в течение 3 суток. В концентрации 10,0 мг/л отмечено подавление уровня флуоресценции на 3-и сутки опыта, составляющее 21%. Концентрация ингибитора коррозии 25,0 мг/л снижает на 2-е сутки опыта флуоресценцию водорослей на 17% и на 3-и сутки – на 51%. Концентрация 100,0 мг/л снижает флуоресценцию фитопланктона, начиная с первых суток исследования и на третьи сутки она снижена на 80%.

Расчетная полуэффективная концентрация ($ЭК_{50}$/72 ч) ингибитора коррозии «Азол 5010» марки А равна 25,0 мг/л.

Концентрация ингибитора коррозии «АЗОЛ 5010» марки В 5,0 мг/л не влияет на жизнедеятельность фитопланктона. Показатели его жизнедеятельности отмечены на уровне контроля на всем протяжении опыта. Концентрация 10,0 мг/л на 3-и сутки опыта снижает флуоресценцию водорослей на 14%. Подавление флуоресценции водорослей с первых по конечные сутки опыта происходит в концентрациях препарата 25,0; 100,0 и 250,0 мг/л и составляет, соответственно, 12–36; 21–50 и 33–77%.

Экспериментальная концентрация 100,0 мг/л ингибитора коррозии «Азол 5010» марки В является полуэффективной за трое суток ($ЭК_{50}$/72 ч).

Из представленных в таблице 2 данных видно, что в концентрациях ингибитора коррозии «Азол Cl-130» 5,0 и 10,0 мг/л не отмечено гибели дафний в течение 4 суток. Гибель организмов отмечается в концентрации 50,0 мг/л и на 4-е сутки достигает 20%. В концентрации препарата 100,0 мг/л на 3-и и 4-е сутки опыта гибель зоопланктона составила 50%. На 3-и сутки опыта гибель рачков составляет 100%.

Экспериментальная полулетальная концентрация ингибитора коррозии «Азол CI-130» для дафний за 4 суток ($ЛК_{50}$/96 ч) равна 100,0 мг/л.

Не отмечено гибели дафний в концентрациях ингибитора коррозии «Азол 5010» марка А 0,1 и 0,5 мг/л в тече-

*Таблица 1*

## Показатели жизнедеятельности *S. Quadricauda* (изменение флуоресценции хлорофилла клеток) в различных концентрациях ингибиторов коррозии

| Концентрация, мг/л | Сутки опыта | | |
|---|---|---|---|
| | 1-е | 2-е | 3-и |
| | Ингибитор коррозии «Азол CI-130» | | |
| Контроль | 0,24 | 0,50 | 1,05 |
| 50,0 | 0,24 | 0,5 | 1,05 |
| 100,0 | 0,24 | 0,48 | 0,97 |
| 500,0 | 0,22 | 0,45 | **0,87** |
| 1000,0 | 0,21 | 0,42 | 0,72 |
| 2000,0 | 0,17 | 0,37 | 0,34 |
| % от контроля | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 |
| 50,0 | 100 | 100 | 100 |
| 100,0 | 100 | 96 | 93 |
| 500,0 | 91 | 90 | **83** |
| 1000,0 | 86 | 82 | 69 |
| 2000,0 | 74 | 72 | 32 |
| Ингибитор коррозии «Азол 5010» марки А | | | |
| Контроль | 0,24 | 0,50 | 1,05 |
| 1,0 | 0,24 | 0,50 | 1,05 |
| 5,0 | 0,21 | 0,4 | 0,76 |
| 10,0 | 0,20 | 0,37 | **0,6** |
| 25,0 | 0,20 | **0,33** | **0,37** |
| 100,0 | 0,18 | 0,19 | 0,15 |
| % от контроля | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 |
| 1,0 | 100 | 100 | 100 |
| 5,0 | 100 | 100 | 100 |
| 10,0 | 100 | 95 | **79** |
| 25,0 | 90 | **83** | **49** |
| 100,0 | 83 | 49 | 20 |
| Ингибитор коррозии «Азол 5010» марки В | | | |
| Контроль | 0,24 | 0,50 | 1,05 |
| 5,0 | 0,21 | 0,47 | 0,70 |
| 10,0 | 0,20 | 0,42 | **0,60** |
| 25,0 | 0,18 | 0,34 | 0,45 |
| 100,0 | 0,16 | 0,30 | 0,35 |
| 250,0 | 0,14 | 0,25 | 0,16 |
| % от контроля | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 |
| 5,0 | 100 | 100 | 100 |
| 10,0 | 95 | 90 | **86** |
| 25,0 | 88 | 73 | 64 |
| 100,0 | 79 | 64 | 50 |
| 250,0 | 67 | 53 | 23 |

*Таблица 2*

## Динамика выживаемости Daphnia magna в различных концентрациях ингибиторов коррозии

| Концентрация мг/л | Сутки опыта | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| | Ингибитор коррозии «Азол CI-130» | | | |
| Контроль | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 5,0 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 10,0 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| **50,0** | 10 | 10 | 9 | **8** |
| **100,0** | 9 | 9 | **5** | **5** |
| **200,0** | **8** | **6** | **0** | **0** |
| % от контроля | | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 5,0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 10,0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| **50,0** | 100 | 100 | 90 | **80** |
| **100,0** | 90 | 90 | **50** | **50** |
| **200,0** | **80** | **60** | **0** | **0** |
| Ингибитор коррозии «Азол 5010» марки А | | | | |
| Контроль | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 0,1 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 0,5 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 1,0 | 10 | 10 | 9 | 9 |
| **2,5** | 10 | **7** | **7** | **5** |
| **5,0** | 10 | **0** | **0** | **0** |
| % от контроля | | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 0,1 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 0,5 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 1,0 | 100 | 100 | 90 | 90 |
| **2,5** | 100 | **70** | **70** | **50** |
| **5,0** | 100 | **0** | **0** | **0** |
| Ингибитор коррозии «Азол 5010» марки В | | | | |
| Контроль | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 1,0 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 2,5 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| **5,0** | **8** | **7** | **7** | **7** |
| **7,5** | **7** | **6** | **6** | **6** |
| **10,0** | **5** | **4** | **1** | **0** |
| % от контроля | | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 1,0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 2,5 | 90 | 90 | 90 | 90 |
| **5,0** | **80** | **70** | **70** | **70** |
| 7,5 | 70 | 60 | 60 | 60 |
| 10,0 | 50 | 40 | 10 | 0 |

*Таблица 3*

## Динамика выживаемости (%) односуточных *Poecillia reticulate* Peters в различных концентрациях ингибиторов коррозии, экспозиция 96 ч, n = 30

| Концентрация, мг/л | Сутки опыта | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1-е | 2-е | 3-и | 4-е |
| | Ингибитор коррозии «Азол CI-130» | | | |
| Контроль | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 10,0 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 20,0 | 30 | 30 | 27 | **24** |
| 30,0 | 30 | 27 | **23** | **15** |
| 40,0 | 30 | **24** | **16** | **6** |
| 50,0 | 27 | **18** | **6** | **0** |
| % от контроля | | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 10,0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 20,0 | 100 | 100 | 90,0 | **80,0** |
| 30,0 | 100 | 90,0 | **76,7** | **50,0** |
| 40,0 | 100 | **80,0** | **53,3** | **20,0** |
| 50,0 | 90,0 | **60,0** | 20,0 | 0 |
| Ингибитор коррозии «Азол 5010» марки А | | | | |
| Контроль | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 100,0 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 150,0 | 30 | 30 | 30 | **26** |
| 200,0 | 30 | 30 | **26** | **22** |
| 250,0 | 30 | **25** | **18** | **11** |
| 300,0 | 24 | 15 | 8 | 0 |
| % от контроля | | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 100,0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 150,0 | 100 | 100 | 100 | **86,7** |
| 200,0 | 100 | 100 | **86,7** | **66,7** |
| 250,0 | 100 | **83,3** | **60,0** | 33,3 |
| 300,0 | 80,0 | 50,0 | 26,7 | 0 |
| Ингибитор коррозии «Азол 5010» марки В | | | | |
| Контроль | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 10,0 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 20,0 | 30 | 30 | 28 | **24** |
| 30,0 | 30 | 28 | **24** | **15** |
| 40,0 | 30 | **25** | **17** | **6** |
| 50,0 | 28 | **19** | **7** | **0** |
| % от контроля | | | | |
| Контроль | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 10,0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 20,0 | 100 | 100 | 93,3 | **80,0** |
| 30,0 | 100 | 93,3 | **80,0** | **50,0** |
| 40,0 | 100 | **83,3** | **56,7** | **20,0** |
| 50,0 | 93,3 | **63,3** | **23,3** | **0** |

ние 4 суток. Гибель организмов начинает отмечаться в концентрации 1,0 мг/л и составляет 10% на 3–4-е сутки опыта. В концентрации 2,5 мг/л на 2-е сутки гибель составляет 30%, а к 4-м суткам гибель достигает 50%. В концентрации 5,0 мг/л организмы зоопланктона полностью (100%) погибают на 2-е сутки опыта.

Экспериментальная полулетальная концентрация ингибитора коррозии «Азол 5010» марки А для дафний за 4 суток ($ЛК_{50}$/96 ч) равна 2,5 мг/л.

В концентрации ингибитора коррозии «Азол 5010» марка В 1,0 до мг/л не отмечено гибели дафний в течение всего опыта. Гибель организмов начинает отмечаться в концентрации 2,5 мг/л с 1-х по 4-е сутки и достигает 10%. В концентрациях 5,0 и 7,5 мг/л гибель организмов достигает к 4-м суткам, соответственно, 30 и 40%. В концентрации препарата 10,0 мг/л на 4-е сутки опыта гибнет 100% рачков.

Расчетная полулетальная концентрация ($ЛК_{50}$ 96 ч) ингибитора коррозии «Азол 5010» марки В для зоопланктонных организмов равна 8,31 мг/л.

Представленные в таблице 3 данные показывают, что на 4-е сутки опыта при концентрации ингибитора коррозии «Азол СІ-130» 50,0 мг/л наблюдается 100% гибель организмов. В концентрациях 40,0; 30,0 и 20,0 мг/л выживают на 4-е сутки, соответственно 20, 50 и 80% мальков рыб по сравнению с контролем. При 10,0 мг/л гибели односуточных мальков не отмечено на протяжении всего эксперимента.

Экспериментально установленная полулетальная концентрация ингибитора коррозии «Азол СІ-130» за 96 часов ($ЛК_{50}$/96ч) для рыб равна 30,0 мг/л.

Концентрация ингибитора коррозии «Азол 5010» марки А 300,0 мг/л вызывает 100% гибель мальков гуппи. В концентрациях 250,0; 200,0 и 150,0 мг/л на 4-е сутки выживают, соответственно 33,3; 66,7 и 86,7% мальков рыб по сравнению с контролем. В концентрации 100,0 мг/л гибель односуточных мальков не отмечена на протяжении всего эксперимента.

Расчетная полулетальная концентрация ($ЛК_{50}$/96 ч) ингибитора коррозии «Азол 5010» марки А для мальков рыб равна 225,0 мг/л.

Под действием ингибитора коррозии «Азол 5010» марки В в концентрации 50,0 мг/л на 4-е сутки опыта наблюдается 100% гибель мальков гуппи. В концентрациях препарата 40,0; 30,0 и 20,0 мг/л выживают, соответственно, 20; 50 и 80% мальков по сравнению с контролем. В концентрации 10,0 мг/л гибели мальков не отмечено.

По экспериментальным данным полулетальная концентрация ингибитора коррозии «Азол 5010» марки В за 4 суток ($ЛК_{50}$/96ч) составляет 30,0 мг/л.

Представленные в таблице 4 обобщенные данные свидетельствуют о том, что для ингибитора коррозии «Азол СІ-130» наиболее слабым тест-организмом из трех исследованных (фито-, зоопланктон, рыбы) являются рыбы, для которых получена наименьшая полулетальная концентрация 30,0 мг/л. Для ингибитора корозии «Азол 5010» марки А такой концентрацией является 2,5 мг/л (по зоопланктону), а для ингибитора корозии «Азол 5010» марки В – концентрация 5,0 мг/л (по фитопланктону).

**Выводы.** Согласно классификации Л.А. Лесникова и К.К. Врочинского [5] по степени острой токсичности для водных организмов:

– ингибитор коррозии «Азол СІ-130» оценивается как среднетоксичный ($ЛК_{50}$ от 5,0 до 50,0 мг/л) для водных организмов ($ЛК_{50}$ для рыб 30,0 мг/л);

– ингибитор коррозии «Азол-5010» марки А оценивается как высокотоксичный ($ЛК_{50}$ от 0,5 до 5,0 мг/л) для водных организмов ($ЛК_{50}$ для зоопланктона 2,5 мг/л);

– ингибитор коррозии «Азол-5010» марки В оценивается как среднетоксичный ($ЛК_{50}$ от 5,0 до 50,0 мг/л) для водных организмов ($ЛК_{50}$ для фитопланктона 5,0 мг/л);

В таблице 4 дополнительно внесена рассчитанная по экспериментальным данным для зоопланктона $ЛК_{50}$/24 ч (учитывая требования Федерального закона от 21.06.1997 г. 116-ФЗ «О промышленной безопасности опасных производственных объектов (с изменениями от 07.08.2000 г.,

*Таблица 4*

**Обобщенные данные результатов исследования токсичности ингибиторов коррозии для гидробионтов**

| Ингибитор коррозии | Фитопланктон ($ЭК_{50}$/72 ч), мг/л | Зоопланктон $ЛК_{50}$/ 96 ч/24 ч, мг/л | Рыба (односуточные гуппи), $ЛК_{50}$/96 ч, мг/л | Слабое звено |
|---|---|---|---|---|
| «Азол СІ-130» | 1737,8 | 100,0/218,0* | 30,0 | Рыбы (30,0 мг/л) |
| «Азол-5010» марки А | 5,0 | 2,5/2,88* | 225,0 | Зоопланктон (2,5 мг/л) |
| «Азол-5010» марки В | 5,0 | 8,31/8,71* | 30,0 | Фитопланктон (5,0 мг/л) |

**Примечание.** * Числитель – $ЛК_{50}$/96 ч, знаменатель – $ЛК_{50}$/24 ч.

10.01.2003 г.).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** *Беленький М.Л.* Элементы количественной оценки фармакологического эффекта/ Изд. АН Латвийской ССР. – Рига, 1959, 1963. –110 с.

**2.** Ингибитор коррозии «Азол CI-130»/ Технические условия// ТУ 2458-048-00205423 (взамен ВТУ 2491-027-00205423-2003), дата введения 10.07.03. Изменение №1, дата введения 24.03.06, Изменение № 2, дата введения 08.04.08.

**3.** Ингибитор коррозии «Азол-5010» марки А/ Технические условия// ТУ 2458-045-00205423, дата введения 02.10.03. Изменение №1, дата введения 24.03.06.

**4.** Ингибитор коррозии «Азол-5010» марки В/ Технические условия// ТУ 2458-045-00205423, дата введения 02.10.03. Изменение №1, дата введения 24.03.06.

**5.** Методические указания по рыбохозяйственной оценке пестицидов. ГосНИОРХ., Л., 1973.

**6.** *Прозоровский В.Б.* Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / Фармакология и токсикология. – М., 1962. – С. 68–79.

**7.** Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. Утв. МПР России 27 апреля 2001 г. Изд. РЭФИ, НИА-Природа, М., 2002 г.


*A.S. Fedotov*

**Toxicity assessment of corrosion inhibitors Azol CI-130, Azol 5010, brand A and Azol 5010, brand B for hydrobionts**

FSUE «All-Russian Institute of Fisheries and Oceonography», 107140, Moscow, Russian Federation

Toxicity of corro sion inhibitors Azol CI-130, Azol 5010, brand A and Azol 5010, brand B was assessed in standard test-objects: phytoplanktonic organisms –*Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb; zooplanktonic organism *Daphnia magna* Straus and fishes, one-day old fishes (baby fishes)-*Poecillia reticulate Peters*. To assess toxic effects on hydrobionts, were used indicators of median lethal concentrations ($LC_{50}$) characterizing changes by 50% in survival (death) of organisms for a determined period of time-24,48 and 96h ($LC_{50}$/24; 48; 96h). Based on the assessment results, it was found out that corrosion inhibitors Azol CI-130 and Azol 5010, brand B refer to moderately toxic substances and corrosion inhibitor Azol 5010, brand A to highly toxic ones.

***Key words:*** *preparations, phytoplankton, zooplankton, toxicity.*

Материал поступил в редакцию 02.07.2012 г.

# ЮБИЛЕЙ

## ПИНИГИН МИГМАР АЛЕКСАНДРОВИЧ

28 августа 2013 года исполнилось 85 лет со дня рождения и 60 лет научно-педагогической деятельности видного ученого-гигиениста, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации

ПИНИГИНА МИГМАРА АЛЕКСАНДРОВИЧА.

Мигмар Александрович после окончания в 1953 году Ленинградского санитарно-гигиенического медицинского института поступил в аспирантуру того же института. С 1956 по 1959 год – научный сотрудник Московского института гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, с 1959 по 1963 год – ассистент, доцент кафедры гигиены 2-го Московского медицинского института им. Н.И. Пирогова, с 1 января 1964 по июнь 1970 года – заведующий кафедры гигиены и организации здравоохранения медицинского факультета Российского университета дружбы народов. С июля 1970 года и по настоящее время работает в ФГБУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина МЗ РФ в должности руководителя лаборатории гигиены атмосферного воздуха.

В научных исследованиях профессора М.А. Пинигина получили развитие актуальные проблемы гигиены окружающей среды: оценка опасности предприятий различных отраслей промышленности как источников загрязнения атмосферного воздуха и влияния этого загрязнения на здоровье населения, критерии и методы регламентации и оценки загрязнения атмосферного воздуха веществами, обладающими запахом, методология гигиенической регламентации химических веществ, в том числе ускоренными методами. Результатами этих исследований и разработок являются многочисленные нормативные документы, ГОСТы, санитарные нормы и правила, гигиенические нормативы, отражены в Законе «Об охране атмосферного воздуха» и других важнейших документах государственного санитарного законодательства. М.А. Пинигин автор более 350 печатных работ, в том числе 8 монографий, опубликованных в России и за рубежом.

Мигмар Александрович внес существенный вклад в развитие современной оценки степени загрязнения атмосферного воздуха с учетом уровня, длительности, частоты (вероятности) воздействия, класса опасности загрязняющих веществ и биологических особенностей их воздействия на состояние здоровья населения. Теоретически и экспериментально обосновал новую систему и методологию оценки токсичности и опасности этих веществ, в том числе с учетом вероятности ощущения и силы их запаха, а также кумуляции токсических эффектов и адаптации к ним систем организма. Разработаны теоретические основы санитарной классификации опасности предприятий и практики организации санитарно-защитных зон как стимулирующей меры снижения этой опасности для здоровья населения.

За 60 лет научно-педагогической деятельности проф. М.А. Пинигин создал научную школу по токсикологии атмосферных загрязнений и санитарной охране атмосферного воздуха, под его руководством защищено более 50 кандидатских и докторских диссертаций, его ученики работают директорами, заведующими кафедр, руководителями научных лабораторий различных институтов.

Имя Мигмара Александровича Пинигина широко известно в нашей стране и за рубежом. Вызывает искреннее восхищение его несгибаемая верность научным принципам и убеждениям, многие из которых, преодолевая сопротивление, в итоге находят признание в научном мире.

Профессор М.А. Пинигин на протяжении многих лет постоянно ведет большую общественную и научно-организационную работу – он является членом Ученого совета института, председателем секции «Гигиены атмосферного воздуха» Проблемной комиссии «Научные основы гигиены окружающей среды» Научного совета по экологии человека и гигиены окружающей среды Минздрава РФ и РАМН, членом редколлегии журналов «Гигиена и санитария», «Токсикологический вестник», членом группы экспертов комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

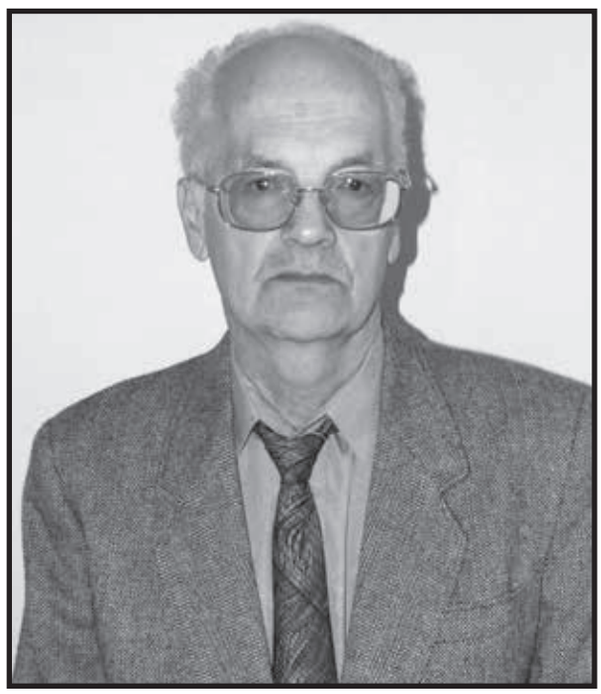
***ГЛУБОКОУВАЖАЕМЫЙ МИГМАР АЛЕКСАНДРОВИЧ!***

*Сердечно поздравляем Вас с юбилеем, желаем здоровья, счастья, благополучия и дальнейших творческих успехов на благо отечественного здравоохранения и гигиенической науки.*

***Всероссийская общественная организация токсикологов, редакция журнала «Токсикологический вестник», друзья и коллеги***

# НЕКРОЛОГ

## НИКОЛАЙ ГЕОРГИЕВИЧ ИВАНОВ



После тяжелой болезни ушел из жизни видный русский ученый – токсиколог, интеллигентный и доброжелательный, отзывчивый, талантливый коллега и друг.

Иванов Николай Георгиевич родился 25 августа 1936 г. в городе Москве. В 1960 г. окончил санитарно-гигиенический факультет 1-го МОЛГМИ им. И.М. Сеченова по специальности «Медико-санитарное дело».

Свою трудовую научную деятельность начал под руководством члена-корреспондента АМН СССР, профессора И.В. Саноцкого в отделе токсикологии НИИ гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР. Николай Георгиевич был одним из плеяды ученых, которые составили основу Московской школы токсикологов. Он на всю жизнь сохранил преданность идеям своего Учителя.

В 1965 г. он защитил кандидатскую диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, в 1987 г. – диссертацию «Принципы и методы ускоренного гигиенического нормирования промышленных веществ на основе исследования характера действия на организм» на соискание доктора медицинских наук по специальности гигиена и получил звание профессора.

В 1989 г. он организовал лабораторию токсикологии во 2-о Медицинском институте им. Н.И. Пирогова, которой руководил по настоящее время. Свою научную деятельность он совмещал с педагогической, работая профессором на кафедре гигиены РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Научные исследования Н.Г. Иванова были направлены на развитие и совершенствование методологии гигиенического нормирования химических и биологических загрязнителей окружающей среды, на изучение закономерностей первичных реакций организма на минимальное воздействие вредных веществ, ученым-исследователем были разработаны оригинальные методы обоснования величин гигиенических нормативов загрязнителей, обладающих различным характером действия на организм.

Область научных интересов Николая Георгиевича широко представлена в более 255 научных работах, 3 монографиях и в учебных пособиях. Под руководством Н.Г. Иванова были разработаны и обоснованы более 300 ПДК химических и биологических веществ в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест. Он подготовил 15 кандидатов и докторов наук, активно участвовал в работе Проблемных комиссий «Научной основы гигиены окружающей среды» РАМН при Росздраве по гигиеническому нормированию химических веществ в атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны, был главным экспертом Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Роспотребнадзора, членом Диссертационного совета РНИМУ им. Н.И. Пирогова. В 2013 г. в составе авторского коллектива Николай Георгиевич был удостоен именной премии Ф.Ф. Эрисмана по профилактической медицине.

Николай Георгиевич Иванов был талантливым организатором научного процесса, умеющим решать подчас сложные проблемы. В коллективе он всегда создавал атмосферу дружелюбия и радости, внимания и благорасположения друг к другу, умел твердо отстаивать свое мнение.

Сотрудники отдела токсикологии и преподаватели кафедры гигиены РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Всероссийская общественная организация токсикологов, редакция журнала «Токсикологический вестник» скорбят о тяжелой утрате.

Бюллетень

Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

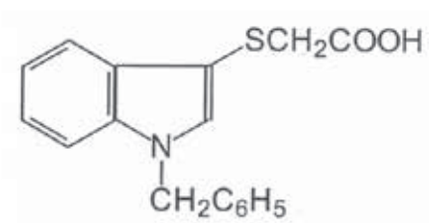
## НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 615.9

# (1-БЕНЗИЛИНДОЛ-3-ИЛ-ТИО) УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

*Н.А. Мартынова,*
*Л.Г. Горохова*

ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» Сибирского отделения РАМН, 654041, г. Новокузнецк




Представлены данные о токсичности и опасности, а также рекомендуемый ОБУВ в воздухе рабочей зоны (1-Бензилиндол-3-ил-тио) уксусной кислоты.

***Ключевые слова:*** *опасность, токсичность.*

$C_{17}H_{15}NO_2S$. М.м. 297,38. Кристаллический порошок кремовато-розового цвета. Температура плавления 108,5–110,5 °С. Растворим в эфире, ацетоне, хлороформе, этаноле, практически нерастворим в воде. (1-Бензилиндол-3-ил-тио) уксусной кислоты (БИТУК) является полупродуктом производства оригинального иммунодепрессанта ВИЛИМ [1]. По параметрам общей токсичности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 относится к умеренно опасным веществам (III класс опасности). $DL_{50}$ (в/ж) для крыс-самцов, крыс-самок, мышей-самцов и мышей-самок составила соответственно 3375, 3800 (3193÷4522), 1800 (1545÷2097) и 1500 мг/кг. Существенных различий в видовой и половой чувствительности животных к веществу не выявлено: КВР 1,9 (самцы) и 2,5 (самки); КПЧ 1,13 (крысы) и 1,2 (мыши).

Клиническая картина острого отравления у мышей и крыс была однотипной и характеризовалась кратковременным периодом возбуждения, который сменялся угнетением, малоподвижностью, тремором, периодическими клонико-тоническими судорогами, шаткой походкой, парезом задних конечностей, урежением дыхания, снижением температуры тела. Гибель животных наступала преимущественно в течение первых суток.

Не обладает кожно-резорбтивным и местным раздражающим действием на кожу. Оказывает слабое раздражающее действие на слизистые оболочки глаз. Изучение сенсибилизирующих свойств БИТУК в опытах на морских свинках методом многократных эпикутанных аппликаций [4] не выявило аллергенных свойств у вещества.

Обладает слабой способностью к кумуляцмм: $C_{cum}$ 5,1 (крысы-самки, метод Lim et al).

*Мартынова Нина Андреевна (Martynova Nina Andreevna)*, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории прикладных гигиенических исследований ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» Сибирского отделения РАМН, г. Новокузнецк. E-mail: ecologia_nie@mail.ru
*Горохова Лариса Геннадьевна (Gorokhova Larisa Gennadjevna)*, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальных гигиенических исследований ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» Сибирского отделения РАМН, г. Новокузнецк. E-mail:ponomarikova@mail.ru

В субхроническом эксперименте (0,1 $DL_{50}$, в/ж, 1 месяц) у опытных животных отмечалось отставание в приросте массы тела по сравнению с контролем, снижение ректальной температуры. При исследовании сыворотки крови выявлено повышение активности АлТ, АсТ, щелочной фосфатазы и а-амилазы, увеличение концентрации мочевины и белка, а также уменьшение концентрации общего холестерина, глюкозы и ионов хлора. На всем протяжении затравки наблюдалось увеличение спонтанного диуреза, общего белка и ионов хлора в моче. Указанное свидетельствует о нарушении функционального состояния печени и почек.

$Lim_{ac}$ (ингаляция, 4 ч, крысы-самки) установлен на уровне 100,7 мг/м$^3$ (понижение ректальной температуры, повышение активности а-амилазы, увеличение концентрации ионов хлора в сыворотке крови и лейкоцитов в периферической крови). Определение концентрации БИТУК в воздухе затравочных камер проводили спектрофотометрическим методом. Величина ориентировочного безопасного уровня воздействия (ОБУВ), рассчитанная по уравнениям с учетом $DL_{50}$, $Lim_{ac}$, $C_{cum}$ [2], составила 2,53 мг/м$^3$.

При обосновании ОБУВ учитывали опыт гигиенического нормирования индола [3], близкого к БИТУК по структуре и параметрам токсикометрии, для которого разработан ОБУВ на уровне 1 мг/м$^3$. БИТУК в отличие от индола не обладает раздражающим действием на дыхательные пути.

На основании изложенного рекомендован ОБУВ БИТУК в воздухе рабочей зоны 2 мг/м$^3$, агрегатное состояние – аэрозоль.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


**1.** ВИЛИМ: доклинические исследования / Под ред. К.В. Гайдуля, О.П. Колесниковой. – Новосибирск, 2008. – 132 с.
**2.** Методические указания по установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия вредных веществ в воздухе рабочей зоны (№ 4000-85). – М., 1985. – 33 с.
**3.** *Мартынова Н.А.* Токсикологическая характеристика индола как основа его гигиенического регламентирования / Н.А. Мартынова, Л.Г. Горохова // Гигиена и санитария. – 2012. – № 6. – С. 61–64.
**4.** Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы: Методические указания 1.1.578-96. – М.: Информационно-издательский центр Минздрава России, 1997. – 24 с.


*N.A. Martynova, L.G. Gorokhova*

**1-Benzylindol-3-yl-thio acetic acid**

Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, 654041, Novokuznetsk, Russian Federation

Data are presented on toxicity and hazard as well as TSEL of 1-Benzyl-indole-3-thio-acetic acid in occupational air.
***Key words:*** *hazard, toxicity.*

Материал поступил в редакцию 09.07.2013 г.

## РЕЕСТР СВИДЕТЕЛЬСТВ О ГОСУДАРСТВЕННОЙ РЕГИСТРАЦИИ

**(единая форма Таможенного союза, российская часть)**

| № п/п | Наименование продукта | Производитель | Получатель | Номер свидетельства о госрегистрации, дата регистрации | Наименование вещества по IUPAC | № CAS/ ЕС | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер РПОХБВ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Акриловая кислота | «Momentive Speciality Chemicals, a.s.»,Tovarni c.p. 2093, 356 01 Socolov (Чешская Республика) | ООО «ЭНЕРГОЭФФЕКТ», 606024, Нижегородская обл., г. Дзержинск, ул. Ватутина, 82-213 (Российская Федерация) | RU.77.99.88.008. E.006566.04.12 от 12.04.2012 | Проп-2-еновая кислота | 79-10-7/ 201-177-9 | Этиленкарбоновая кислота, ледяная акриловая кислота | серия ВТ № 000763 |

| № п/п | Наименование продукта | Производитель | Получатель | Номер свидетельства о госрегистрации, дата регистрации | Наименование вещества по IUPAC | № CAS/EC | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер РПОХБВ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2. | Бензойная кислота/ BENZOIC ACID | TIANJIN DONGDA CHEMICAL GROUP CO., LTD. No.728 Kaiwei Road, Tangu, Binhai New Area Tianjin, 300455, China. (Китайская Народная Республика) | ООО «ДЕЛФИН ДИСТРИБЬЮ-ШЕН», 107497, Москва, Иркутская ул., 11, корп. 1. (Российская Федерация) | RU.77.99.32.008. E.006513.04.12 от 11.04.2012 | Бензойная кислота | 65-85-0/ 200-618-2 | Бензолкарбоновая кислота; карбоксибензол; фенилмуравьиная кислота; бензолметановая кислота | серия ВТ № 000212 |
| 3. | NALCO RM2034 | Nalco Europe Sarl, A-One Business Center, Z.A. La Piece 1 Route de l'Etraz, 1180 Rolle, Switzerland; Nalco Europe B.V., Ir.G. Tjalmaweg 1, 2342 BV Oegstgeest, Postbus 627, 2300 AP Leiden, The Netherlands; Nalco Osterreich Ges.m.b.H., Scheydgasse 34-36, A-1210 Vienna, Austria; NALCO FRANCE SAS, P.O. Box 50039, 59447 Wasquehal Cedex; Nalco Finland Oy, Innopoli, Tekniikantie 12, 02 150 Espoo;Nalco Deutschland GmbH, Ludwig-Landmann-Strasse 405, 60486 Frankfurt am Main; Nalco Italiana srl, Viale dell'Esperanto 71, 00144 Rome; Nalco Espanola S.A., P.O. Box 30175, 08080 Barcelona; Nalco Limited, P.O.Box 11, Northwich, Cheshire CW8 4DX (Великобритания) | ТОО «РауанНалко» 060007, г. Атырау, ул. Кулманова, 113 (Казахстан) | RU.77.99.32.008. E.006510.04.12 от 11.04.2012 | N,N-Диэтиламин | 109-89-7/ 203-716-3 | N-Этилэтанамин; диэтиламин (diethylamine) | серия ВТ № 000604 |
| 4. | N-[2-[(2-BROMO-4,6-DINITRO-PHENYL) AZO]-5-(DIETHY-LAMINO) PHENYL] ACETAMIDE | Rokem Hongkong Limited, Unit 602, 6/F, Causeway Bay Commercial Building, 1 Sugar street, Causeway Bay, Hong Kong, Китайская Народная Республика (ПРИЛОЖЕНИЕ) | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, д. 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.15.008. E.006504.04.12 от 11.04.2012 | N-[2-[(2-Бром-4,6-динитрофенил)азо]-5-(диэтиламино)фенил] ацетамид | 52697-38-8/ 258-110-1 | N-[2-[(2-Бром-4,6-динитрофенил) диазенил]-5-(диэтиламино)фенил] ацетамид | серия ВТ № 003667 |
| 5. | 3-[[2-(ACETOXY) ETHYL][4-[2-CHLORO-4-NITROPHENIL) AZO] PHENIL] AMINOPRO-PIONITRILE | Rokem Hongkong Limited, Unit 602, 6/F, Causeway Bay Commercial Building, 1 Sugar street, Causeway Bay, Hong Kong, Китайская Народная Республика (ПРИЛОЖЕНИЕ) | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, д. 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.15.008. E.006503.04.12 от 11.04.2012 | IUPAC: 3-[[(2-Ацелокси) этил] [4-[(2-хлор-4-нитрофенил)азо]фенил] амино]пропанонитрил | 12217-86-6/ 227-876-9 | 4-Нитро-2-хлор-4'N-ацетоксиэтил-N,бета-цианэтиламиноазо-бензол | серия ВТ № 000177 |
| 6. | N-[2-(2-BROMO-4,6-DINITROPHENYL) DIAZENYL-5-(DIETHYLAMINO)-4-METHO-XYPHENYL] ACETAMIDE | Rokem Hongkong Limited, Unit 602, 6/F, Causeway Bay Commercial Building, 1 Sugar street, Causeway Bay, Hong Kong, Китайская Народная Республика (ПРИЛОЖЕНИЕ) | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, д. 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.15.008. E.006502.04.12 от 11.04.2012 | N-[2-[(2-Бром-4,6-динитрофенил)азо]-5-(диэтиламино)-4-метоксифенил]ацетамид | 83929-84-4/ | 2-((2-Бром-4,6-динитрофенил)азо)-5-(диэтиламино)-4-метоксиацетанилид | серия ВТ № 003665 |

| № п/п | Наименование продукта | Производитель | Получатель | Номер свидетельства о госрегистрации, дата регистрации | Наименование вещества по IUPAC | № CAS/EC | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер РПОХБВ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7. | Разбавитель Molykote® 7415 THINNER | «Dow Corning GmbH», Rheingaustrasse 34, D-65201, Wiesbaden Germany, Германия; Завод изготовитель: «Dow Corning Europe S.A.», Parc Industriel-zone C, rue Jules Bordet, 7180 Seneffe, Belgium (Бельгия) | ООО «Дау Корнинг», 109147, Москва, ул.Таганская, дом 17/23 (Российская Федерация) | RU.77.99.88.008. E.006476.04.12 от 10.04.2012 | 1-Этилпирролидин-2-он | 2687-91-4/ 220-250-6 | N-Этил-2-пирролидон | серия ВТ № 003675 |
| 8. | Муравьиная кислота | «Tianjin Chengyi International Trading Co., Limited.», Room 1309, Wufeng Building, No. 11 Zhenxing Street, National Hi-Tech Industrial Development Zone of Taiyuan, Shanxi, China (Китайская Народная Республика) | ООО ПК «АКИВ», 630027, г. Новосибирск, ул. Б. Хмельницкого, 111 (Российская Федерация) | RU.77.99.88.008. E.006475.04.12 от 10.04.2012 | Метановая кислота | 64-18-6/ 200-579-1 | Муравьиная кислота (85%) | серия ВТ № 000746 |
| 9. | UNIFOAM AZODICAR-BONAMIDE (вспенивающий агент) | «Hebron SA - Spain» Avenida Estacion, 61, 08120 La Liagosta, Barcelona-Spain (Испания); Филиалы: «P.T. LAUTAN OTSUKA CHEMICAL» JL.Brigjend Katamso KM 123 Gunung Sugih, Ciwadan, Cilegon 42447 - Banten, INDONESIA (Индонезия); «P.T. LAUTAN OTSUKA CHEMICAL» Graha Indramas, 5th floor Jl. AIP II KS Tubun Raya No. 77, Jakarta 11410, INDONESIA (Индонезия) | ООО «Троцеллен РУС» 141650, Московская область, Клинский район, пгт. Высоковск, терр. а/д. «Лотошино-Суворово-Клин», 75+780м правая сторона, владение 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.88.008. E.006451.04.12 от 10.04.2012 | 1,1'-Азобискарбоамид | 123-77-3/ 204-650-8 | Азобискарбонамид, азодикарбоамид, азобискарбоксамид, диазенедикарбоксоамид; азодикарбонамид (azodicarbonamide) | серия ВТ № 003084 |
| 10. | 1-HYDRO-XYETHYLIDENE-1,1-DIPHOSPHONIC ACID (HEDP) | SHANDONG TAIHE WATER TREATMENT CO., LTD Hongcun, Xiwangzhuang Town, Shizhong District, Zaozhuang, Shandong Province, P.R.China. (Китайская Народная Республика) | ООО «МИРРИКО КОМПЛЕКСНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ», 420095, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Восстания, д. 100 (Российская Федерация) | RU.77.99.32.008. E.006353.04.12 от 09.04.2012 | 1-Гидроксиэтилиден-дифосфоновая кислота; | 2809-21-4/ 220-552-8 | Гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота, 1-оксиэтилиден-дифосфоновая кислота; 1-гидроксиэтилидендифосфо-новая кислота; оксиэтилиден-дифосфоновая кислота, 1-HYDROXYETHYLIDENE-1-DIPHOSPHONIC ACID HEDP (58-62 % водный раствор вещества) | серия ВТ № 000987 |
| 11. | Краситель органический Пигмент красный 5С | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, д.1 (Российская Федерация) | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, д.1 (Российская Федерация) | RU.77.99.21.008. E.006351.04.12 от 09.04.2012 | 4-[[4-Аминокарбонил) фенил]азо] -3-гидрокси-N-(2-меток-сифенил) нафталин -2-карбоксамид | 36968-27-1/ 253-292-9 | Пигмент красный 5С; пигмент красный 170:1; пигмент красный 266; C.I. 12474, Pigment Red 170:1; Pigment Red 266 | серия ВТ № 000218 |
| 12. | Краситель органический Пигмент желтый светопрочный | ОАО «Пигмент», 392681, г.Тамбов, ул. Монтажников, 1 (Российская Федерация) | ОАО «Пигмент», 392681, г.Тамбов, ул. Монтажников, 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.21.008. E.006350.04.12 от 09.04.2012 | 2-[(4-Метил-2-нитрофенил)азо]-3-оксо-N-фенилбутанамид кальция | 2512-29-0/ 219-730-8 | Пигмент желтый светопрочный; C.I. 11680, Pigment yellow I | серия ВТ № 000094 |
| 13. | Краситель органический Пигмент зеленый | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, 1 (Российская Федерация) | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.21.008. E.006349.04.12 от 09.04.2012 | Трис(1,2-нафтален-1,2-дион-1-оксимато-0,0')феррат(1-) натрия | 16143-80-9/ 240-299-7 | Краситель органический пигмент зеленый 8; пигмент зеленый 8; Pigment Green 8; C.I. 10006 | серия ВТ № 000093 |

| № п/п | Наименование продукта | Производитель | Получатель | Номер свидетельства о госрегистрации, дата регистрации | Наименование вещества по IUPAC | № CAS/EC | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер РПОХБВ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14. | 1-(4-ТОЛИЛ)-3-МЕТИЛ-5-ПИРАЗОЛОН; 1-(4-TOLYL)-3-METHYL-5-PYRAZOLONE | ASAMBLY CHEMICALS COMPANY LIMITED», 18TH FLOOR, BLOCK B, HIGH HOPE MANSION, 91 BAIXIA ROAD, NANJING 210005 (Китайская Народная Республика) | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.21.008. E.006348.04.12 от 09.04.2012 | 2,4-Дигидро-5-метил-2-(4-метилфенил)-3Н-пиразол-3-он | 86-92-0/ 201-708-4 | 3-Метил-1-пара-толил-2-пиразолин-5-он; 3-метил-1 -(4-метилфенил)-2-пиразолин-5-он | серия ВТ № 000015 |
| 15. | Толуилендиизоциа-нат (ТДИ) | «CANGZHOU DAHUA GROUP CO., LTD» (КАНГЖОУ ДАХУА ГРУП КО., ЛТД), NO.20 YONGJI EAST ROAD CANGZHOU HEBEI CHINA POST; 061000 (NO.20 ЙОНГЛИ ИСТ РОАД КАНГЖОУ ХЕБЕЙ, 61000) (Китайская Народная Республика) | ЗАО «ХимПартнеры», 115230, г. Москва, Каширское ш., д. 5, корп. 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.32.008. E.006342.04.12 от 09.04.2012 | 1,3-Диизоцианатме-тилбензол | 26471-62-5/ 247-722-4 | Толуилендиизоцианат; метилфенилдиизоцианат; смесь метил-m-фениловых эфиров изоциановой кислоты; смесь толуилен-2,4 и 2,6 диизоцианатов в соотношении 80:20 (ТДИ 80:20); TDI-80 | серия ВТ № 001378 |
| 16. | Voranate T-80 Type I TDI; Voranate T-80 E Type I TDI | «Dow Europe GmbH», Bachtobelstrasse 3, CH-8810 Horgen, Швейцария; филиалы: «Dow Brasil S.A.» Rua Hidrogenio, 3076, Polo Petroquimico de Camacari, Camacari (BA) CEP: 42810-000., Brazil, Бразилия; «Dow Europe GmbH c/o Dow Benelux B.V.» Herbert H. Dowweg 5, 4530 Terneuzen, The Netherlands, Нидерланды; «The Dow Chemical Company» 2301 N. Brazosport Blvd, Freeport, TX 77541, USA, США; «Dow Chemical Korea Ltd.» 20-21st Floor, City Air Tower Building, 159-9, Samsung-Dong, Kangnam-Ku, Seoul 135-973, Korea (Корея) | «Dow Europe GmbH», Bachtobelstrasse 3, CH-8810 Horgen, Switzerland (Швейцария) | RU.77.99.88.008. E.006302.04.12 от 06.04.2012 | 1,3-Диизоцианатметил-бензол. | 26471-62-5/ 247-722-4 | Толуилендиизоцианат; метилфенилдиизоцианат; смесь метил-m-фениловых эфиров изоциановой кислоты; смесь толуилен-2,4 и 2,6 диизоцианатов в соотношении 80:20 (ТДИ 80:20) | серия ВТ № 001378 |
| 17. | СОЛЬВЕНТ каменноугольный | ООО НПП «Кэпитал», 603001, г. Н.Новгород, ул. Рождественская, д. 30 (Российская Федерация) | ООО НПП «Кэпитал», 603001, г. Н.Новгород, ул. Рождественская, д. 30 (Российская Федерация) | RU.77.99.88.008. E.006100.04.12 от 03.04.2012 | Сольвент каменноу-гольный. | | | серия ВТ № 002221 |
| 18. | Benzyldimethylamine JD BDMA Catalyst / Бензилдиметиламин JD BDMA Catalyst | «Jiangdu Dajiang Chemical Industrial Co., LTD» Yiling Town, Jiangdu, Jiangsu, China (Китайская Народная Республика) | ООО «Дау Изолан» г. Владимир, ул. Б. Ниже-городская, 81 (Российская Федерация) | RU.77.99.88.008. E.006900.04.12 от 20.04.2012 | N,N-Диметилбензол-метанамин | 103-83-3/ 203-149-1 | N-(Фенилметил)диметиламин; N-бензил-N,N-диметиламин; бензил-N,N-диметиламин; альфа-(диметиламин) толуол; диметилбензиламин N-Бензилдиметиламин | серия ВТ № 002994 |
| 19. | Этерифицирован-ная натриевая соль бутилфосфорной кислоты ZEROSTAT AT New, ZEROSTAT, ZEROSTAT FC New | «Huntsman Advanced Materials (Switzerland) GmbH» Klybeckstrasse 200, 4057 Basel, Switzerland, (Швейцария); Филиалы (ПРИЛОЖЕНИЕ) | Представительство частной компании с ОО «Хантсмен (Нидерланды) Б.В.» 101000, г. Москва, Архангельский пер., д.10, стр.1 (Россий-ская Федерация) | RU.77.99.88.008. E.006899.04.12 от 20.04.2012 | Бутилфосфат натрия | 53126-67-3/ 258-380-0 | Фосфорной кислоты бутиловый эфир натриевая соль; Этерифицированная натриевая соль бутилфосфорной кислоты ZEROSTAT AT New, ZEROSTAT, ZEROSTAT FC New (51% водный раствор вещества) | серия ВТ № 003680 |

| № п/п | Наименование продукта | Производитель | Получатель | Номер свидетельства о госрегистрации, дата регистрации | Наименование вещества по IUPAC | № CAS/ ЕС | Синонимы, торговые и фирменные названия | Номер РПОХБВ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20. | 1,4-DIAMI-NOANTHRACENE-9,10-DIONE | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтажников, д. 1 (Российская Федерация) | Rokem Hongkong Limited, Unit 602, 6/F, Causeway Bay Commercial Building, 1 Sugar street, Causeway Bay, Hong Kong, Китайская Народная Республика (дочерние организации) | RU.77.99.44.008. E.006846.04.12 от 19.04.2012 | 1,4-Диаминантрацен-9,10-дион | 128-95-0/ 204-922-6 | 1,4-Диаминоантрахинон | серия ВТ № 003674 |
| 21. | Трихлоризоциа-нуровая кислота / Trichloroisocyanuric acid | Rokem Hongkong Limited, Unit 602, 6/F, Causeway Bay Commercial Building, 1 Sugar street, Causeway Bay, Hong Kong (Китайская Народная Республика) | ЗАО «НПФ Техно-хим», 117420, г. Москва, ул. Новочеремуш-кинская, д. 66, корп. 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.44.008. E.006845.04.12 от 19.04.2012 | 1,3,5-Трихлор-1,3,5- триазин-2,4,6 (1Н, 3Н,5Н)- трион | 87-90-1/ 201-782-8 | 1,3,5-Трихлор-S-триазин-2,4,6(1Н,3Н,5Н)- трион, N,N'N»-трихлоризоциануровая кислота, 1,3,5 -трихлоризоци-ануровая кислота, трихлоризо-цианурат | серия ВТ № 003183 |
| 22. | Краситель основной красный 1 / Basic Red 1 | Rokem Hongkong Limited, Unit 602, 6/F, Causeway Bay Commercial Building, 1 Sugar street, Causeway Bay, Hong Kong, Китай-ская Народная Республи-ка; дочерние организации (ПРИЛОЖЕНИЕ) | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтаж-ников, д. 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.15.008. E.006843.04.12 от 19.04.2012 | 9-[2-(Этоксикарбонил) фенил]-3,6-бис (этиламино)-2,7-диметилксантилийхлорид | 989-38-8/ 213-584-9 | 2-[6-(Этиламино)-3-этилими-но-2,7-диметил-3Н-ксантен-9-ил] этилбензоат монохлорид | серия ВТ № 002158 |
| 23. | 3-[[4-[(2-CHLORO-4-NITROPHENIL) AZO- PHENIL]-ETHILAMINO] PROPIONITRILE | Rokem Hongkong Limited, Unit 602, 6/F, Causeway Bay Commercial Building, 1 Sugar street, Causeway Bay, Hong Kong, Китай-ская Народная Республи-ка; дочерние организации (ПРИЛОЖЕНИЕ) | ОАО «Пигмент», 392681, г. Тамбов, ул. Монтаж-ников, д. 1 (Российская Федерация) | RU.77.99.15.008. E.006842.04.12 от 19.04.2012 | 3-[[4-[2-Хлор-4-нитрофенил) азо]фенил]этиламин] пропаннитрил | 40880-51-1/ 255-127-6 | 4-Нитро-2-хлор-4'N-этил-N,бе-та-цианэтиламиноазобензол | серия ВТ № 000080 |
| 24. | Триизобутилфосфат (TIBP) | «HEBEI HAIHUA ENERGY DEVELOPMENT GROUP CO., LTD», 50, Zhonghua North Street, ShiJiazhung, Hebei, P.R. China, 050051 (Китайская Народная Республика) | «HEBEI HAIHUA ENERGY DEVELOPMENT GROUP CO., LTD», 50, Zhonghua North Street, ShiJiazhung, Hebei, P.R. China, 050051 (Китайская Народная Республика) | RU.77.99.32.008. E.006841.04.12 от 19.04.2012 | Трис(2-метилпропил)фосфат. синонимы и торговое название: Триизобутиловый эфир фосфорной кислоты | 126-71-6/ 204-798-3 | Триизобутиловый эфир фосфорной кислоты | серия ВТ № 001261 |
| 25. | Этилтриацетоксиси-лан / Ethyltriacetoxy-silane (ETA); | NITROCHEMIE ASCHAU GMBH, Liebigstrasse 17, D-84544, Aschau am Inn, Germany (Германия) | ООО «ПЕНТА-91», 119501, г. Москва, ул. Матвеевская, д. 6, комната правления (Российская Федерация) | RU.77.99.32.008. E.006838.04.12 от 19.04.2012 | Триацетоксиэтилсилан | 17689-77-9/ 241-677-4 | Этилтриацетатсилантриол | серия ВТ № 002073 |
| 26. | Product 10192 | «Star Chemicals and Catalysts Co., LTD», No. 1102, Red Stone Center Mansion, 225 Chaowang Road, Hangzhou, China (Китайская Народная Республика) | ООО «Кемойл Сер-вис», 125315, г. Мо-сква, Ленинградский проспект, д. 72, стр. 4, офис № 210 (Российская Фе-дерация) | RU.77.99.32.008. E.006837.04.12 от 19.04.2012 | 2-Гидроксиэтан-1-тиол | 60-24-2/ 200-464-6 | 1-Этанол-2-тиол; 2-гидрок-сиэтилмеркаптан; 2-тиоэ-танол; 2-меркаптоэтанол; 2-mercaptoethanol | серия ВТ № 003306 |
| 27. | AGA-BUFFER-1 | «Weatherford Engineered Chemistry», 515 Post Oak Blvd. Houston, TX 77027 US (США) | ООО «Везерфорд», 125047, г. Москва, 4-й Лесной пер., д. 4 (Российская Фе-дерация) | RU.77.99.34.008. E.006830.04.12 от 19.04.2012 | 2-Гидроксиуксусная кислота | 79-14-1/ 201-180-5 | Гидроксиэтановая кислота; ги-дроксиуксусная кислота; глико-левая кислота; AGA-BUFFER-1 (60-80% водный раствор) | серия ВТ № 003168 |
| 28. | CC-120 | «Weatherford US., L.P.», 515 Post Oak Blvd. Houston, TX 77027 US (США) | ООО «Везерфорд», 125047, г. Москва, 4-й Лесной пер., д. 4 (Российская Федерация) | RU.77.99.34.008. E.006795.04.12 от 18.04.2012 | 2-Гидрокси-N,N,N-триметилэтанаминий хлорид | 67-48-1/ 200-655-4 | (2-Гидроксиэтил)триметиламмо-ний хлорид; (бета-гидроксиэтил) триметиламмоний хлорид; три-метил(2-гидроксиэтил)-аммоний хлорид; CC-120 (70% водный раствор) | серия ВТ № 000273 |