ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review

Научно-практический журнал

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

№3 (126), 2014

СОДЕРЖАНИЕ

УДК 615.099.036.8

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ НАСЕЛЕНИЮ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ: СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ

Ю.Н.Остапенко[1], А.В.Ковалев[2], З.М.Гасимова[1], В.В.Зайковский[1]

[1]ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России», 129090, г. Москва
[2]ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России», 125284, г. Москва

В последние годы наблюдается заметное снижение количества госпитализированных больных острыми химическими отравлениями, в среднем, на 20,1%. До 57% случаев госпитализации составляют отравления веществами немедицинского назначения, преимущественно алкоголем (в среднем 43,8%). Около 12,8% составляют пациенты пожилого возраста, летальность среди которых доходит до 9,98% по сравнению с 4,47% в группе до 60 лет. Также снизилась смертность при отравлениях, на 47,1% за последние 10 лет. Основные причины смертельных отравлений алкоголь, оксид углерода, наркотики, последние имеют тенденцию к увеличению. В России работают центры острых отравлений в 38 территориях, охватывающие менее 50% населения страны. В современной экономической ситуации актуальной задачей является создание сети информационно-консультативных токсикологических центров в территориях с малой численностью населения, которые, не требуя значительных финансовых затрат, позволяют сделать специализированную токсикологическую помощь в любой точке страны.

Ключевые слова: *отравления, заболеваемость, смертность, организация специализированной помощи при отравлениях, информационно-консультативные токсикологические центры.*

Введение. Острые отравления химической этиологии рассматриваются наряду с ведущими неинфекционными заболеваниями (онкологические, нарушения мозгового кровообращения, инфаркт миокарда) и травмами в качестве важного фактора, обусловливающего высокую заболеваемость и преждевременную смертность трудоспособного населения, а также ухудшение демографической ситуации в целом. Обычно, говоря об актуальности острых химических отравлениях, принято употреблять термин токсическая или токсикологическая ситуация, которая обуславливает высокий уровень заболеваемости и смертности от этой патологии. Наряду с профилактическими мерами, преимущественно относящимися к ужесточению контроля производства, применения, хранения химических веществ, лекарственных препаратов, профилактике алкоголизма и наркомании, существенное значение имеет качество оказания медицинской помощи, в частности, адекватная организация её с учетом особенностей данной патологии. Наиболее соответствующими этой проблеме являются специализированные токсикологические центры, как общепринятая организационная форма, обеспечивающая адекватность, надежность в решении диагностических и лечебных проблем, возникающих при остром химическом воздействии [1].

Цель. Изучение и сравнительный анализ токсикологической ситуации в целом по Российской Федерации, по Федеральным округам за 2011-2012 гг., а также в сравнении с предыдущими годами, начиная с 2003 г. (при наличии данных) и освещение организационных вопросов, касающихся совершенствования и перспектив развития специализированной медицинской помощи при данной патологии.

Материалы и методы. Анализ годовых отчетов токсикологических центров (Ф.64), статистических данных Минздрава России - отчетной формы № 14 («Состав больных в

Остапенко Юрий Николаевич (Ostapenko Yury Nikolaevich), доцент, директор ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России», г. Москва, rtiac@mail.ru
Ковалев Андрей Валентинович (Kovalev Andrey Valentinovich), доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России», г. Москва, mail@rc-sme.ru
Гасимова Зульфира Масгутовна (Gasimova Zulfira Masgutovna), кандидат биологических наук, ученый секретарь ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России», г. Москва, zulfiram@mail.ru
Ермохина Татьяна Викторовна (Ermokhina Tatiyana Viktorovna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России», г. Москва, dretv@mail.ru
Зайковский Виталий Викторович (Zaikovsky Vitaly Viktorovich), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России», г. Москва, 1976doktor@gmail.com

стационаре, сроки и исходы лечения» и «Состав больных с отравлениями групп Т36-Т65 по МКБ-10 в стационаре, сроки и исходы лечения по округам РФ) и «Отравления лекарственными средствами, медикаментами и биологическими веществами, токсическое действие веществ немедицинского назначения Т36-Т65» (Ф. 57) за 2011 г, Республиканского центра судебно-медицинской экспертизы за 2012 г., по общему числу острых отравлений со смертельным исходом (Ф. № 42) и в территориях субъектов РФ по ведущим нозологическим формам. Кроме того, были использованы для сравнения результаты научно-исследовательской работы «Научное обоснование концепции по борьбе со смертностью при острых отравлениях химической этиологии», выполненной в рамках Государственного контракта от 20.07.2007 г. № 66-ПД между Министерством здравоохранения и социального развития Российской Федерации и ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ НПТЦ ФМБА России). Кроме того, были сопоставлены декларируемые в работе принципы организации медицинской помощи с действующим нормативными документами по данной теме.

Результаты и обсуждение. Особенностями учета острых химических отравлений является то, что используемая Федеральной службой статистики (Росстат) система учета этих заболеваний не отражает истинной картины не только общего количества острых отравлениях, но и их распространения с учетом региональных особенностей, как по числу случаев, так и по этиологическим факторам. В качестве отдельных нозологических форм выделяются по живым лицам в ограниченном списке отравления алкоголем без выделения других отдельных нозологических форм, а в отчетах бюро судебно-медицинской экспертизы дополнительно - растворителями, наркотическими препаратами, прижигающими веществами, металлами, пестицидами без учета других этиологических факторов.

Помимо этого, статистическими органами здравоохранения учитывается информация только по госпитализированным больным, что составляет не более 60-70% всех пострадавших от острых отравлений. Так, по данным отчетов 18 центров отравлений (Ф.64, 2005-2006 гг) удельный вес пациентов, получивших в стационарах амбулаторную медицинскую помощь и не попавших в статистическую отчетность, составляет в среднем 34,6% от всех обратившихся в стационары токсикологического профиля и 21,4% - в стационары общего профиля. Больные острыми отравлениями, обслуженные на дому бригадами скорой медицинской помощи и не госпитализированные, вообще не отражаются в статистической отчетности. Из числа госпитализированных пострадавших 50-55% являются жертвами случайных, 27-30% - суицидальных отравлений (протекающих в наиболее тяжелой форме), в среднем 43,8% госпитализируются в связи с токсическим действием этанола (Т51.0 по МКБ10). Подавляющее большинство острых отравлений (99,6%) происходят в бытовых условиях.

С целью анализа динамики обращаемости за медицинской помощью были изучены данные о количестве госпитализированных пациентов с острыми отравлениями за последние 10 лет (табл. 1) с сопоставлением абсолютного количества госпитализаций и показателя на 100 тысяч населения. Кроме того, традиционно выделена группа детей до 14 лет, а в 2011 году – до 18 лет. Поскольку в представленной Минздравом России отчетной форме № 14 отсутствовали сведения из Амурской, Ивановской, Курганской областей и Чукотского автономного округа, расчет на 100 тысяч проводился без учета населения указанных территорий, Как видно из таблицы, заметна тенденция к снижению не только общего количества госпитализированных больных, но и показателя. Имеется некоторое увеличение в 2011 году по сравнению с 2009 (на 2,43%), однако, учитывая относительную точность этих данных, можно говорить о некоторой стабилизации этих показателей. Интересны данные о количестве госпитализированных детей. Несмотря на расширение возрастной границы учета пациентов детского возраста и некоторое снижение (на 10,3%) общего числа госпитализированных детей, удельный вес их в общем количестве отравлений существенно не изменился. Показатель госпитализации на 100 тысяч по федеральным

Таблица 1

Количество больных острыми отравлениями, госпитализированных в период 2002-2011 г.г.

Показатели	Годы							
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2009	2011
Абсолютное число Госпитализаций	268511	254802	252873	253850	254470	234325	209371	214473
На 100000 населения	185,2	175,7	174,4	175,1	175,5	161,6	144,4	151,2
В т.ч. детей до 14 лет (2011 г. – до 18 лет): Абсолютное число и в (%)	38656 14,8	46399 18,2	44882 17,7	45212 17,8	42552 16,7	41970 17,9	Нет данных	37662 17,6

округам колебался в 2011 году от 94,5 в Северокавказском до 225,0 в Сибирском федеральном округе. Интерес представляет распределение госпитализированных взрослых пациентов старше 18 лет по учитываемым возрастным категориям – от 18 до 60 и старше 60 лет, поскольку старшая возрастная группа оказывает влияние на такие показатели как летальность, длительность пребывания на койке, наличие осложнений и тяжесть течения отравления. В среднем удельный вес пациентов старше 60 лет составляет 12,8% от всех взрослых с колебанием по округам от 6,8% в Северокавказском до 23,8% в Центральном федеральном округе.

Проведенный нами анализ данных Республиканского центра судебно-медицинской экспертизы по смертности населения от данной патологии в целом по стране выявил динамику, соответствующую общей тенденции, т.е. постепенное снижение как абсолютного количества умерших, так и показателя на 100 тысяч населения. Данные о смертности при острых отравлениях за те же годы, что и госпитализации представлены в таблице 2.

После произошедшего в 1998 г. в стране дефолта начался отчетливый рост смертности населения от острых химических отравлений, которая достигла своего пика (95045 или 66,0 случаев на 100 тысяч населения) в 2002 г. и в течение 6 лет с 2000 по 2006 г.г. устойчиво регистрировалась в пределах 85 - 95 тысяч случаев в год или 60,0-66,0 на 100 тысяч населения [2]. С 2007 г. появилась тенденция к снижению смертности при данной этиологии, и в 2012 году этот показатель, составив 35,0, является самым низким за исследуемый период времени. Удельный вес смертельных исходов у детей в возрасте до 14 лет составил 1,3%.

Было также установлено, что ведущими этиологическими факторами, которые определяют смертность населения от острых химических воздействий в бытовых условиях, являются алкоголь и суррогаты, оксид углерода, наркотики и токсиканты прижигающего действия (табл. 3). Как видно из данной таблицы, структура причин из года в год остается примерно одинаковой, хотя заметно снижение удельного веса отравлений алкоголем, при одновременном росте числа случаев и показателя в группе наркотиков.

При этом следует заметить, что по нашим данным, так называемые суррогаты алкоголя, т.е. технические спирты, органические растворители и другие спиртосодержащие жидкости непищевого назначения, употребление которых происходит с целью алкогольного опьянения, вносят довольно скромный вклад в «алкогольную» смертность населения. В большинстве территорий он не превышает 3-5 %, что опровергает общепринятое мнение, поддерживаемое СМИ, о значительно большем значении суррогатов.

Больничная летальность как важный компонент общей смертности при заболеваниях любой этиологии, в том числе при острых химических отравлениях, была проанализирована отдельно. Для этого были использованы данные форм №№ 14 и 57. Всего за 2011 год в стационарах умерли 9189 пациентов, что составило 4,3%; для сравнения сопоставлены данные, полученные при выполнении работы по Государственному контракту с Минздравом России от 20.07.2007 г. № 66-ПД, где при общем количестве госпитализированных в 2006 г. 254470 человек умерли 10999 (4,3%) [3]. Это свидетельствует о том, что в стационарах умирает относительно небольшое количество пострадавших от отравлений – 12,7% от всех смертельных исходов при данной патологии (данные 2006 г.).

Данные были получены из форм статистической отчетности №№ 14, 57 за 2006 г. по федеральным округам и отдельным территориям.

Среди взрослых больничная летальность составляла в среднем в 2011 году 7,2%, (в 2006 г. - 5,0%), при этом в группе больных от 18 до 60 лет показатель летальности был на уровне 4,47%, а у пожилых (старше 60 лет) отмечено значительное превышение – 9,98%.

В 2011 году больничная летальность среди детей до 18 составила 0,21%, в 2006 - 0,27%, хотя сравнение в данном случае не совсем корректно, учитывая, что в 2006 году детский контингент был представлен в возрасте до 14 лет. Тем не менее, эти показатели можно расценивать как положительную динамику.

Интерес представляет сравнение общей летальности от острых отравлений по всем стационарам и центрам отравлений. При анализе отчетов центров отравлений (Ф.64) летальность колебалась в 2011-2012 гг от 1,25% до 4,6%, составив в среднем 2,6% в 2011г и 2,3% в 2012 г. Для сравнения взяты результаты анализа отчетов 20 центров отравлений за 2005-2006 гг. (Форма № 64), проведенного при выполнении Государственного контракта с Минздравом

Таблица 2

Динамика смертности населения от острых химических отравлений в РФ в 2002-2012 г.г.

	Годы									
Абсолютное число летальных исходов	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2012
	95045	92861	91150	93178	86503	71037	68447	61695	58586	50198
Показатель на 100 000 населения	66,0	64,5	63,3	64,7	60,1	49,3	47,5	43,5	41,3	35,0

России от 20.07.2007 г. № 66-ПД, при котором выявлено, что летальность в центрах отравлений в среднем была в пределах 2,7% (с колебаниями по отдельным территориям от 0,6% до 4,3%), в то же время в стационарах общего профиля этот показатель составлял в среднем 7,0% [3]. Аналогичная тенденция имела место в предыдущие годы.

Это объясняется недостаточной подготовкой врачей по клинической токсикологии, отсутствием возможностей для применения современных диагностических, лечебных и информационных технологий, Сравнение этих показателей свидетельствует без сомнения о необходимости совершенствования организации медицинской помощи больным с данной патологией.

Условием, необходимым для обеспечения диагностики и лечения острого отравления на современном уровне, является наличие возможности проведения реанимации и интенсивной терапии, ускоренной детоксикации, экстренного химико-токсикологического исследования в пределах одного подразделения – лечебного центра острых отравлений или лечебного учреждения, куда госпитализируется такой пациент.

Модель центра острых отравлений формировалась на протяжении всего периода существования специализированной токсикологической помощи в СССР, затем в России, при этом ведущим условием было наличие в составе токсикологического лечебного центра всех компонентов, позволяющих соблюдать единый подход к диагностике, лечению, реабилитации больного острым отравлением, Структура центра (отделения) острых отравлений включает приемное отделение (кабинет), отделение (палату) реанимации и интенсивной терапии с блоком (малой операционной) для экстренной детоксикации, отделение (палаты) острых отравлений (для реабилитации и лечения больных с отравлениями средней и легкой степени), химико-токсикологическую лабораторию. Следует при этом заметить, что подобная модель целесообразна для крупных городов с населением 500 тысяч жителей и более, иначе существование такого центра будет не рентабельным. Для территорий с малой численностью населения, в особенности располагающихся на обширных и часто мало доступных территориях, целесообразна модель, представленная информационно-консультативным токсикологическим центром (ИКТЦ) или отделением, организованным в составе многопрофильного стационара, куда госпитализируются боль-

Таблица 3

Ведущие причины смертельных исходов при острых отравлениях в РФ (число случаев на 100 тыс. населения / % от общего числа отравлений)

Причины смертельных исходов	Годы					
	2005	2006	2007	2008	2009	2012
Всего острых отравлений	64,7	60,1	49,3	47,5	43,5	35,0
	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Алкоголь	36,1	30,4	23,8	23,0	20,0	14,8
	55,8%	50,6%	48,3%	48,4%	46,3%	42,1%
Суррогаты	2,1	2,2	1,8	1,6	1,5	1,4
	3,3%	3,7%	3,6%	3,4%	3,6%	4,0%
Оксид углерода	13,6	12,9	11,2	11,4	10,8	8,8
	21,0%	21,5%	22,7%	24,0%	25,1%	25,2%
Наркотики	5,7	6,8	5,7	5,4	5,0	5,2
	8,8%	11,3%	11,6%	11,4%	11,5%	14,8%
Лекарственные средства	Нет данных					1,0
	Нет данных					2,8%
Кислоты и щелочи	2,0	1,9	1,7	1,6	1,5	1,1
	3,1%	3,2%	3,4%	3,4%	3,5%	3,2%
Другие причины	5,2	5,9	5,1	4,5	4,7	2,4
	8,0%	9,7%	10,3%	9,4%	10,0%	7,0%

ные отравлениями и оснащенного необходимым диагностическим и лечебным оборудованием, включая отделение реанимации и интенсивной терапии.

ИКТЦ (отделение) - относительно новый для России вид специализированной токсикологической помощи, является общепринятым в США, Латинской Америке, странах Европы и других. Его преимуществом является возможность экстренного круглосуточного обеспечения необходимой информацией, как медицинских работников, так и населения на большой, в том числе удаленной территории, что особенно важно для нашей страны.

Клиническую эффективность такого центра мы попытались оценить на примере информационно-консультативного токсикологического отделения Научно-практического токсикологического центра ФМБА России (НПТЦ) [4], результаты приведены в таблице 4.

Помимо этого возможно оценить очевидный экономический эффект. Попытка оценки экономической эффективности была проведена нами в 2010 г. Так, в результате телефонных консультаций стационаров г. Москвы химико-токсикологическое исследование было не рекомендовано или не разрешено в 900 случаях, с учетом средней стоимости методов скринингового и расширенного исследований основных групп лекарственных препаратов и летучих соединений стоимость этих анализов могла ориентировочно составить от 675 000 до 1,2 млн. руб. Консультация родственников пострадавшего, оперативного отдела станции скорой медицинской помощи позволила почти в 30% случаев этих обращений избежать ненужного вызова бригады СМП, что в 2010 г. составило около 300 случаев. С учетом стоимости вызова реанимационной бригады, приоритетной для этих случаев, экономический эффект по этому разделу расходов составил не менее 1,8 млн. руб. Помимо этого, при таких консультациях абоненты получают конкретные медицинские рекомендации по оказанию необходимой доврачебной помощи.

Аналогично может быть подсчитана экономия средств в случаях, когда не рекомендована госпитализация в центр отравлений или вообще отсутствуют показания к госпитализации. Причем, такой подсчет целесообразен для любой территории, где функционирует или предполагается организация информационно-консультативной токсикологической помощи.

Специализированные токсикологические центры, начиная с второй половины прошлого столетия, зарекомендовали себя как наиболее эффективные медицинские подразделения, обеспечивающие в необходимом объеме помощь пострадавшим от острых отравлений, а ИКТЦ рекомендованы ВОЗ, как общепринятая организационная форма, обеспечивающая адекватность, надежность в решении диагностических, лечебных и профилактических проблем, возникающих при остром химическом воздействии [1]. Для Российской Федерации, где основным видом специализированной токсикологической помощи являются лечебные центры отравлений, обеспечивающие не более 50% населения страны [2], развитие сети ИКТЦ (отделений) является оптимальным направлением совершенствования этого вида медицинской помощи, который развивается в стране крайне неудовлетворительными темпами. Проведенные исследования демонстрируют эффективность такой формы оказания специализированной токсикологической помощи, что особенно важно для территорий с малой численностью населения и, как правило, с ограниченными возможностями финансирования здравоохранения.

Следует подчеркнуть, что приведенные данные не являются исчерпывающими, поскольку не включают стоимость лечения больного с отравлением в отделении реанимации и интенсивной терапии, в том числе с использованием экс-

Таблица 4

Оценка клинической эффективности телефонных консультаций НПТЦ

Содержание запроса	Результат консультации	Удельный вес, %
Уточнение диагноза		
Диагноз «отравление»	исключен	23
Отравление	подтверждено или установлено	47
Согласование лечения		
	проведена коррекция лечения	60
Уточнение необходимости и места госпитализации		
	рекомендован центр отравлений	56
	рекомендовано соматопсихиатрическое отделение	18
	госпитализация не рекомендована	26

тракорпоральной детокскации, острых отравлений, при этом суммарный экономический эффект будет еще более доказательным в пользу развития данного направления. С учетом перспектив развития интернет- и компьютерных технологий этот относительно новый для нашей страны вид специализированной медицинской помощи при острых химических отравлениях может рассматриваться как первый этап создания системы дистанционной токсикологической помощи населению Российской Федерации при острой химической патологии.

Изложенный выше принцип построения модели специализированной токсикологической стационарной медицинской помощи впервые был утвержден приказом Минздрава России № 9 от 08.02.2002 г. «О мерах по совершенствованию организации токсикологической помощи населению Российской Федерации», и затем поддержан приказом № 925н от 15.11.2012 г «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями» Минздрава России. Основные положения этих приказов определяют в качестве приоритетных подразделений для лечения отравлений центры острых отравлений с отделением (палатами) реанимации и интенсивной терапии и условиями для детоксикации, или ИКТЦ или отделения (если центр отравлений отсутствует), организованные в больницах общего профиля, имеющих отделение реанимации и интенсивной терапии. В отличие от предыдущего, приказ № 925н более детализирует порядок оказания медицинской помощи при этой патологии, начиная с первичной медико-санитарной помощи, а также включает стандарт оснащения центра (отделения) острых отравлений.

Заключение. За последнее десятилетие наметилась тенденция к снижению количества госпитализированных пациентов с острыми отравлениями. Однако, общую заболеваемость данной патологией можно вычислить лишь приблизительно поскольку для реальной оценки ситуации необходим учет всех пациентов с отравлением, обратившихся за медицинской помощью. Нельзя не учитывать некоторые изменения тяжести отравлений, что при общем стабильном количестве пострадавших может сказаться на увеличении количества госпитализированных. Более достоверными являются данные о смертности, которая также заметно снизилась, хотя в структуре причин, по-прежнему, преобладают этанол, окись углерода, наркотики, при этом последние имеют тенденцию к увеличению удельного веса в общей структуре смертности. Важно обратить внимание на достаточно высокий уровень больничной летальности, особенно в группе пострадавших старше 60 лет, превышающий в 2,2 раза летальность среди больных в возрастной группе от 18 до 60 лет. При сравнении показателей летальности при данной патологии в стационарах общего профиля и специализированных центрах отравлений последняя ниже в 3,1 раза, причем эта тенденция наблюдается в течение всех лет, взятых для исследования. Последнее является важным аргументом в пользу дальнейшего развития специализированной токсикологической помощи в стране. Притом, что базовой моделью является лечебный токсикологический центр, существенным шагом в обеспечении доступности качественного лечения больных острыми химическими отравлениями должно быть развитие информационно-консультативной токсикологической помощи, с учетом географических и социально-экономических особенностей нашей страны. Это направление отражено в профильных приказах Минздрава России. С учетом перевода финансирования здравоохранения на оплату через ФОМС, необходимо решить вопрос о порядке финансирования ИКТЦ, которое (по опыту многих стран и рекомендации ВОЗ) должно осуществляться из средств бюджета территории субъекта Федерации. По опыту США, Германии и других стран экономически целесообразна организация межрегиональных ИКТЦ с совместным финансированием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Руководство по контролю за ядами: Женева: Публикация ВОЗ в сотрудничестве с ЮНЕП и МОТ; 1998. - IX.
2. *Остапенко, Ю.Н.* Концепция снижения смертности населения Российской Федерации при острых отравлениях химической этиологии. В кн. Ю.Н. Остапенко, Н.Н. Литвинов, П.Г. Рожков, З.М. Гасимова, А.Н. Ельков, И.В. Батурова // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов - М: ВИНИТИ, 2009. - № 7. - С. 3 - 62.
3. «Научное обоснование концепции по борьбе со смертностью при острых отравлениях химической этиологии». Научный отчет по научно-исследовательской работе. Государственный контракт №66-ПД от 20 июля 2007 г. – М. 2007. – С. 12 – 13.
4. *Остапенко Ю.Н., Казачков В.И., Литвинов Н.Н., Бухарин Ю.Ю, Рожков П.Г.* Анализ эффективности консультативной токсикологической помощи при острых отравлениях // Сборник трудов IV съезда токсикологов России 6-8 ноября 2013 г. Москва. – 2013. – С. 346-349.

REFERENCES:

1. Guidelines for Poison Control: Geneva: Published by the World Health Organization in collaboration wirh the United Nations Environment Programme and the International Labour Organization; 1998. - IX. (in Russian)
2. *Ostapenko Y.N., Rozhkov P.G., Gasimova Z.M., Elkov A.N., Baturova I.V., Ermokhina T.V.* Conception of decrease mortality of the Population of Russia because of Acute Chemical Poisoning. In: Problems of Environment and Natural Resources: M. VINITI, 2009; № 7, 3 - 62. (in Russian)
3. Scientific Rationale for Conception for Death Control in Acute Chemical Poisonings. Scientific Report on the Scientific Research. Government Contract No 66-PD by July 20, 2007; Moscow; 12 – 13. (in Russian)
4. *Ostapenko Y.N., Kazachkov V.I., Litvinov N.N., Bukharin Y.Y. Rozhkov P.G.* Analysis of the Efficiency of Poison Information Assistance in Acute Chemical Poisonings. In: Collected Papers of the 4-th Congress of Toxicologists of Russia on 6-8 November. Moscow; 2013; 346-349. (in Russian)

Y.N. Ostapenko[1], A.V. Kovalev[2], Z.M. Gasimova[1], V.V. Zaikovskiy[1]

TOXICOLOGICAL AID TO POPULATION OF THE RUSSIAN FEDERATION: STATUS AND PROBLEMS

[1]Federal State Budgetary Institution «Research and Applied Toxicology Center» of Federal and Medical and Biological Agency, 129090, Moscow
[2]Federal State Budgetary Institution «Russia Center of Forensic Medical Examination» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 125284, Moscow, Russian

Over the last years a noticeable reduction of a number of patients admitted to hospital with acute chemical poisonings was observed , by 20.1% on an average. Up to 57% of hospitalization were poisonings with substances of no accepted medical use , predominantly with alcohol (43.8 on the average). About 12.8% were patients of elderly age, lethality among whom reached up to 9.98% compared to 4.47% in the group of up to 60 year people. . Lethality from poisonings with alcohol also lowered by 47.1% over last 10 years. Main causes of lethal poisonings are alcohol, carbon oxide, narcotics, the latter shows a tendency towards an increase. In Russia centers for acute poisonings operate in 38 territories, encompassing less than 50% of the country's population. In the present economic situation, the urgent problem is to create a network of information and advisory toxicological centers in the territories with a low population size which would afford to provide a toxicological assistance in any venue of the country without requiring significant financial expenses.

Key words: *lethality, morbidity, information and advisory toxicology centers, organization of a specialized medical poisoning first aid, poisonings.*

Материал поступил в редакцию 18.04.2014 г.

УДК 615.9:616.099-036.11.-08.84-78:616.15:616.8:616-08:616-08-039.11:615.03:616-089

ДЕТОКСИКАЦИОННАЯ ТЕРАПИЯ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Е.А. Лужников, Ю.С. Гольдфарб, А.В. Бадалян

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы». 129090, г. Москва
Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования». 123242, г. Москва

Детоксикационная терапия является основным звеном в лечении выраженных проявлений острых отравлений и в токсикогенной стадии наиболее эффективна при комплексном использовании эфферентных (сорбционно-диализных) методов, кишечного лаважа и физико-химической гемотерапии, включающей ультрафиолетовую, лазерную, магнитную гемотерапию и инфузии гипохлорита натрия. В реабилитационном периоде оптимальным является курсовое лечение путем комбинирования медикаментозных и немедикаментозных воздействий. Детоксикационный подход позволяет достичь быстрой коррекции нарушенных показателей гомеостаза, уменьшить выраженность эндотоксикоза, при этом более чем в 3 раза ускоряется очищение организма от экзогенных токсикантов. В некоторых случаях для устранения депо токсикантов используются хирургические и эндоскопические вмешательства. В результате значительно снижаются летальность, частота и тяжесть осложнений, особенно инфекционно-септических, и существенно сокращаются сроки лечения больных.

Ключевые слова: *острое отравление, искусственные методы детоксикации, физико-химическая гемотерапия, комплексная детоксикация.*

В естественных условиях в организм человека при дыхании, а также с водой и пищей попадают различные потенциально токсичные вещества искусственной природы (ксенобиотики). При их концентрации в крови, не превышающей определенного критического уровня, это не приводит к нарушению так называемого химического гомеостаза, который обеспечивается кооперативной функцией общей системы естественной детоксикации организма, включающей иммунную систему крови (белки и форменные элементы), детоксикационную системы печени, прежде всего микросомальную – с участием ферментов Р-450, а также систему экскреторных органов (желудочно-кишечный тракт, почки, легкие, кожа). В противном случае накопление молекул токсичного вещества на рецепторах токсичности приводит к развитию клинической картины острого отравления.

Восстановление химического гомеостаза происходит в процессе детоксикации организма. Иммунная система принимает участие в детоксикации за счет своих клеточных и гуморального звеньев. При этом Т-лимфоциты обеспечивают антитоксические реакции, координацию функционирования иммунной системы в целом и продукцию В-лимфоцитов. В свою очередь, продукция иммуноглобулинов, представляющих гуморальное звено иммунитета, обязана В-лимфоцитам. Иммуноглобулины (*Ig*) участвуют в детоксикации, противодействуя проникновению токсикантов через слизистые кишечника и верхних дыхательных путей (*Ig A*), за счет нейтрализации эндогенных токсикантов, поступающих в кровь из кишечника вследствие гибели в его просвете микробной флоры как результата экзогенной интоксикации (*Ig M*), а также, вероятно, участвуя в образовании антител (*Ig G*). Кроме того, иммуноглобулины могут неспецифически связывать токсиканты как белки.

Биотрансформация токсикантов осуществляется за счет

Лужников Евгений Алексеевич (Luzhnikov Evgeny Alekseevich), доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий научным отделением лечения острых отравлений Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», зав. кафедрой клинической токсикологии ГБОУ ДПО РМАПО, rtiac@mail.ru
Гольдфарб Юрий Семенович (Goldfarb Yury Semenovich), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник отделения лечения острых отравлений Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», профессор кафедры клинической токсикологии ГБОУ ДПО РМАПО, goldfarb@mail.ru
Бадалян Амаяк Вазгенович (Badalyan Amayak Vazgenovich), кандидат медицинских наук, заведующий 2-м отделением острых отравлений Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», доцент кафедры клинической токсикологии ГБОУ ДПО РМАПО, drbadalian1@gmail.com

реакций кислородозависимого фагоцитоза, в которых участвует часть нейтрофильных лейкоцитов. Первый этап фагоцитоза представляет собой удержание токсиканта лейкоцитарной клеткой, а второй, зачастую называемый «респираторным взрывом», – его биотрансформацию за счет активных форм кислорода, к которым относятся атомарный и синглетный кислород, озон, перекись водорода и ионы гипохлорита, продуцируемые в нейтрофиле при его неспецифическом раздражении в виде гипоксии и ацидоза. Исследование уровня в крови циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) предоставляет также возможность контроля за динамикой эндотоксикоза и эффективностью его коррекции.

В микросомальной системе печени токсиканты окисляются до гидрофильных веществ с малым молекулярным весом, проникающих через почечные мембраны, а, кроме того, в печени они образуют еще менее токсичные и более растворимые парные соединения с глюкуроновой и серной кислотами. Выведение токсикантов их организма первые 2 суток в основном осуществляется через кишечник, а завершается через почки. Другие пути выведения (с выдыхаемым воздухом, чрескожный) значат меньше.

При умеренно выраженных отравлениях химической этиологии стимуляция системы естественной детоксикации соответствующими методами (рис. 1) обеспечивает ускоренное выведение токсикантов из организма. Однако при массивной острой интоксикации ксенобиотиками эта система оказывается неэффективной и, более того, повреждается. Проблема экстренной детоксикации поэтому наиболее актуальна для лечения тяжелых форм острых экзогенных отравлений, в клинической картине которых наблюдаются все основные патологические синдромы, а клинико-лабораторные параллели между их динамикой, исходным уровнем токсиканта в крови и эффективностью детоксикации организма проявляются наиболее отчетливо. Основным подходом к детоксикации в таких случаях становится использование автономных каналов выведения токсикантов, которые обеспечиваются методами искусственной детоксикации в комбинации с воздействием на кровь с помощью физических и химических факторов (рис. 1).

Основной принцип детоксикационной терапии (ДТ) – ее раннее применение, близкое к моменту максимальной резорбции токсикантов (как правило, первые 2–3 часа от момента отравления), что позволяет предупредить развитие или уменьшить выраженность патологических синдромов в обеих стадиях отравления – токсикогенной и соматогенной. К таковым в токсикогенной стадии относятся специфический токсический синдром, экзотоксический шок, коматозное состояние и острая дыхательная недостаточность, а в соматогенной – вторичный иммунодефицит и развивающиеся на его фоне инфекционно-септические осложнения (пневмония, сепсис), а также острая печеночно-почечная недостаточность, трофические расстройства и стойкая астения.

Состав ДТ определяется, прежде всего, лабораторными данными о концентрации токсикантов в крови, а также сведениями об их физико-химических свойствах (способность к диализу, сорбции и т.д.). При пороговых концентрациях токсиканта в крови для его выведения из организма достаточно усиления естественной детоксикации, при критических – необходимо использование ДТ в полном объеме, а при смертельных концентрациях неблагоприятные исходы неизбежны, что требует для более успешного лечения дальнейшего усовершенствования ДТ.

При отсутствии возможности экстренной количественной лабораторной диагностики (в течение 1 часа от момента госпитализации) основным критерием тяжести отравления становится его не количественная оценка по характерным клиническим проявлениям, особенно при наличии признаков избирательной токсичности (ширина зрачка, наличие на теле миофибрилляций, специфические изменения электрокардиограммы и пр.). Ингаляционный и парентеральный пути поступления токсикантов более опасны, чем прием внутрь, так как при этом исключается их детоксикация в печени. Необходимо учитывать и преморбидные факторы, особенно нарушения функций наиболее мощных органов естественной детоксикации – печени и почек, когда ДТ должна быть более интенсивной. То же относится и к пожилым больным.

На сегодняшний день используется около 20 технологий ДТ (рис. 2). Среди методов усилении естественной детоксикации стимуляция выведения токсикантов прежде всего касается желудочно-кишечного тракта, где при наиболее частых пероральных отравлениях создается их большое депо. При этом эффективность медикаментов, вызывающих рвоту (например, настой ипекакуаны, апоморфин), применяемых как слабительные и для фармакологической стимуляции кишечника, при тяжелых отравлениях резко снижена, прежде всего в связи с ослаблением их эффекта под действием токсикантов и ускоренным выведением в процессе ДТ; к этому также присоединяется токсический парез желудочно-кишечного тракта. Складывающаяся ситуация нередко требует повышения дозировок фармакологических средств по сравнению с рекомендуемыми и делает актуальным применение преимущественно немедикаментозной детоксикации. Для очищения желудка в ранние сроки наиболее успешно используется его промывание, способствующее удалению более 90% находящихся в нем токсикантов. Одновременно интубация трахеи трубкой с раздувной манжеткой делает эту процедуру безопасной, предотвращая опасные для жизни осложнения, связанные с аспирацией содержимого желудка в верхние дыхательные пути.

Полноценное удаление токсикантов из кишечника достигается с помощью кишечного лаважа (КЛ) с использованием специальных изотоничных и изоионичных солевых энтеральных растворов, интенсивно (до 5–6 л/ч) вводимых в просвет кишечника зонд, установленный в начальном отделе тонкой кишки. Кроме ускорения выведения токсикантов из кишечника, КЛ способствует ликвидации патологических кругов их циркуляции (энтеро-гепатического и энтеро-гематического), а также восстановлению собственной пропульсивной способности кишечной стенки и восполнению жидкостных и электролитных потерь в кровеносном русле.

Проведение КЛ, способствуя предупреждению волнообразного течения интоксикации, связанного с всасыванием токсикантов через кишечную стенку, сопровождается устойчивым снижением их уровня в крови, а также значительным усилением эффекта экстракорпоральной детоксикации; в результате существенно сокращается длительность токсикогенной стадии.

Форсированный диурез (ФД) как самостоятельная процедура используется для очищения крови при отравлениях умеренной тяжести водорастворимыми (гидрофильными) токсикантами (этиловый алкоголь, салицилаты, хлорофос, клофелин и др.) и для достижения максимальной эффективности требует соблюдении этапности его проведения: *водная нагрузка* около 1 л/ч под контролем центрального венозного давления (ЦВД), с последующей *стимуляцией мочеотделения* путем внутривенного струйного введения осмотических диуретиков (мочевина, маннитол из расчета 1–2 г на 1 кг массы тела) в течение 15–20 мин или одномоментного введения салуретиков (лазикс, фуросемид в дозе 100–200 мг) и *поддерживающей инфузионной терапией*, также под контролем ЦВД. Это обеспечивает получение больших объемов мочи (до 5–7 л за 3 ч), со значительными количествами токсикантов. Абсолютное противопоказание к ФД – нарушения гемодинамики с падением систолического давления до 70–80 мм рт.ст., признаки органического поражения почек – олигурия менее 500 мл в сутки, значительное повышение уровня в крови мочевины и креатинина; относительное – пожилой возраст.

При отравлениях «летучими» ядами (алкоголи, хлорированные углеводороды и др.) показана гипервентиляция легких периодами по 20–30 мин с интервалами через 2–3 ч во избежание развития в крови стойкой гипокапнии, препятствующей восстановлению самостоятельного дыхания, нормализации гемодинамики и способствующей усилению отека тканей.

Стимуляция биотрансформации включает ферментную индукцию, показанную в большинстве случаев. В этих случаях предпочтительней немедикаментозные способы в виде физиогемотерапии (ФГТ) – изолированной ультрафиолетовой и лазерной гемотерапии (УФГТ, ЛГТ), обеспечивающей стимуляцию широкого спектра ферментов, а также инициирующей фагоцитоз, например, за счет стимуляции УФ-лучами активности миелопероксидазы, запускающей генерацию активных форм кислорода. Важной особенностью облучения гелий-неоновым лазером является его способность повышать антиоксидантный потенциал крови, что предохраняет клеточные мембраны от необратимого повреждения вследствие высоко вероятной при тяжелых отравлениях гиперактивации перекисного окисления липидов и обеспечивает в результате ведение детоксикационного процесса в приемлемых физиологических условиях.

Ингибиция ферментов необходима редко – при отравлениях токсичными веществами, биотранформация которых протекает по пути «летального синтеза», или токсификации (метанол, этиленгликоль и жирорастворимые фосфорорганические соединения) с образованием продуктов, гораздо более токсичных, чем само вещество, вызвавшее отравление. Однако при отсутствии на сегодняшний день эффективных методик ингибиции выбором являются ускоренное выведение токсиканта и антидотная терапия. Лечебная гипер- и гипотермия в указанном направлении практически не изучены, технически сложны и требуют больших финансовых затрат.

Гораздо перспективней для ускорения биотрансформации токсикантов гипербарическая оксигенация (ГБО), успешно используемая как в токсикогенной (отравления «кровяными» ядами, вызывающими денатурацию гемоглобина и др.), так и в соматогенной стадии – для лечения пневмоний, алкогольной и наркотической абстиненции, астении и др. Наличие барокамер, позволяющих одновременно проводить интенсивную терапию, значительно расширяет возможность раннего применения ГБО.

Непрямая электрохимическая детоксикация крови (химиогемотерапия) с помощью гипохлорита натрия (ГХН) позволяет существенно ускорить биотрансформацию экзо- и эндотоксикантов. Кроме того, как и при ГБО, значительно улучшается оксигенация крови и тканей, особенно периферических, что принципиально важно для предупреждения осложнений соматогенной стадии.

Активация иммунной системы также предпочтительна с помощью немедикаментозного способа – УФГТ. При этом после облучения крови в течение всего 30 мин быстро возрастает содержание в крови Т- и В-лимфоцитов, причем уровень Т-лимфоцитов продолжает увеличиваться в течение суток.

Антидотная фармакотерапия, к сожалению, сопряжена с недостатками фармакотерапии в целом, тем не менее, при наличии показаний к ней использование антидотов обязательно; оно более перспективно на догоспитальном этапе, на котором активные мероприятия по очищению крови от токсикантов, как правило, не проводятся. На сегодняшний день в распоряжении клиницистов имеется около 40 антидотов.

Методы искусственной детоксикации в своем развитии прошли бионический путь, по ходу которого моделировались процессы детоксикации, происходящие в живом организме. В результате разработаны эфферентные методы – *аферетические* (направленные на непосредственное выведение биосред вместе с токсикантом), *диализные* (направленные на отделение высокомолекулярных веществ от низкомолекулярных с помощью полупроницаемых мембран) и *сорбционные* (направленные на удержание токсикантов на поверхности сорбента). Аферетические методы – операция замещения крови (ОЗК), плазм- и лимфаферез – оказались недостаточно эффективными из-за малого объема удаляемых биосред и, соответственно, малого количества выводимых токсикантов. Поэтому ОЗК в настоящее время показана для очищения крови от свободного гемоглобина при отравлениях гемолитическими токсикантами с развитием острой почечной недостаточности; в качестве метода выбора ОЗК может быть использована при отравлениях метгемоглобинобразователями и резком снижении активности холинэстеразы крови в результате отравления фосфорорганическими соединениями. Плазма- и лимфаферез более действенны в соматогенной стадии, если в результате развития печеночно-почечных осложнений развивается

гипергидратация, что также сопровождается ростом продукции лимфы и позволяет поэтому более успешно очищать кровь от эндогенных токсикантов, чаще от свободного гемоглобина, миоглобина и билирубина.

В токсикогенной стадии наиболее эффективными на сегодняшний день являются экстракорпоральные сорбционно-диализные методы детоксикации с использованием искусственных полимерных (гемодиализ, ГД) или естественных (перитонеальный диализ, ПД) полупроницаемых мембран и неселективных угольных сорбентов (гемосорбция, ГС). При ГД действуют такие компоненты, как концентрационный градиент токсиканта по обе стороны мембраны диализатора, а также фильтрационный и конвективный массоперенос, что способствует расширению спектра выводимых токсикантов. В том числе ГД при отравлениях, например, барбитуратами длительного действия, мало связанными с белками, оказывается многократно эффективней форсированного диуреза. В числе других водорастворимых токсикантов, которые хорошо удаляются из крови при ГД – салицилаты, водорастворимые фосфорорганические соединения (хлорофос), метанол и этиленгликоль. Высока эффективность ГД в комплексном лечении отравлений хлорированными углеводородами (дихлорэтан, четыреххлористый углерод и т.п.), а также, при использовании специальных методик антидотной терапии унитиолом – при отравлениях соединениями тяжелых металлов и мышьяка.

ПД по клиренсу токсикантов менее эффективен, чем ГД, однако его проведение принципиально необходимо для очищения жировых депо брюшной полости от жирорастворимых токсикантов, прежде всего хлорированных углеводородов. Существенным преимуществом ПД является также возможность его использования при выраженных гемодинамических нарушениях, когда противопоказаны экстракорпоральные методы детоксикации, как аферетические, так и сорбционно-диализные.

ГС проста технически, так как для ее проведения в принципе достаточно колонки-детоксикатора, заполненной сорбентом, и насоса по крови; можно также проводить эту операцию методом «самотека» крови – в силу артерио-венозного градиента ее давления. Сорбционная детоксикация в узком плане может быть использована с целью сокращения объемов выведения из организма ценных биосред в виде конверсии аферетических вмешательств – лимфо- и плазмафереза – в лимфо- и плазмосорбцию.

В широком плане ГС применяется в ранние сроки, включая догоспитальный этап, при различных отравлениях, как правило, с отчетливым положительным клиническим и лабораторным эффектом. При этом реализуется лечебный механизм, присущий только ГС и включающий ряд эффектов. *Этиоспецифический* эффект направлен на непосредственное удаление из крови экзогенных токсикантов, *патоспецифический* – на выведение из крови токсикантов эндогенного происхождения. *Неспецифический* эффект заключается в коррекции нарушенных показателей гомеостаза, прежде всего гемореологических, что приводит к восстановлению органного кровотока и, благодаря наблюдаемой после ГС выраженной дезагрегации форменных элементов крови – эритроцитов и тромбоцитов, активации фибринолиза и очищения микроциркуляторного русла от продуктов деградации фибрин-фибриногена, предупреждает развитие необратимого синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови.

В результате ГС очищение организма от токсикантов (по периоду их полупребывания в крови) в сравнении с возможностями усиления естественной детоксикации беспрецедентно ускоряется – в 2,5–10 раз. При этом наблюдается снижение содержания токсикантов в крови от смертельного и критического до порогового. В токсикологической клинике это преимущество ГС, как правило, оказывается решающим. Кроме того, на фоне ГС значительно повышается устойчивость организма к токсикантам, в результате чего значительно снижается риск смерти при тяжелых отравлениях.

Каждый из методов сорбционно-диализной детоксикации обладает определенными, свойственными ему преимуществами, поэтому в целях повышения общего эффекта детоксикации используется их сочетание. Считается, что сочетание ГС с ГД наиболее целесообразно при отсутствии резких различий в клиренсах токсиканта. Кроме того, роль ГД и его модификаций (гемофильтрация, гемодиафильтрация) существенно возрастает в случаях, требующих одновременной коррекции водно-электролитного баланса.

Лечебные механизмы экстракорпоральных методов детоксикации, в первую очередь ГС, значительно усиливаются при их комбинации с физико-химической гемотерапией (ФХГТ). Так, неспецифический гемореологический эффект можно получить поэтапно, применяя до начала ГС магнитную гемотерапию (МГТ). При этом агрегация форменных элементов крови снижается более чем вдвое, практически нормализуясь, а контакт сорбента с форменными элементами крови происходит более щадяще, без выброса из клеток крови, прежде всего тромбоцитов, биологически активных веществ, в том числе вазоплегического характера. Это предупреждает гемодинамические осложнения в процессе последующей ГС и позволяет обеспечить адекватное кровоснабжение периферических органов, обеспечивая их эффективное участие в процессах естественной детоксикации.

Комбинирование ГС и УФГТ приводит в течение суток к значительному повышению детоксикационного потенциала иммунной системы за счет устойчивого роста абсолютного содержания в крови Т-лимфоцитов (почти на 70%) и повышению интенсивности биотрансформационной составляющей фагоцитоза в НСТ-тесте более чем в 3 раза.

Усиление патоспецифического эффекта ДТ при отравлениях фосфорорганическими соединениями в значительной мере связано с восстановлением активности холинэстеразы крови под влиянием ФГТ. В широком плане ФГТ, в первую очередь магнитная, при ее комбинации с ГС способствует более интенсивному очищению организма от средних молекул. При комбинации инфузий ГХН с ГС наблюдается, кроме того, стабилизация сорбции СМ в достаточно высоком темпе (клиренс 27–62 мл/мин), не зависящем от характера фармакологической предоперационной инфузии,

которая нередко включает использование средне- и высокомолекулярных декстранов (реополиглюкина, полиглюкина), ухудшающее сорбционный процесс по данному параметру. Все это вносит существенный вклад в коррекцию эндотоксикоза.

Этиоспецифический эффект ДТ может быть усилен, например, при комбинации ГС и УФГТ с определенной мощностью облучения (5,2–5,5×10^{-2} Вт) и облучением крови на входе в колонку-детоксикатор, что сопровождается значительным (более чем на 80%) повышением темпа сорбции токсикантов в процессе ГС. Кроме того, упомянутая выше предварительная коррекция гемореологии, достигаемая в процессе МГТ, при последующей ГС способствует возрастанию темпа очищения крови на 25–50%.

С помощью сочетанной ФГТ могут быть получены дополнительные эффекты. В неспецифическом плане для магнитно-ультрафиолетовой и лазерно-ультрафиолетовой гемотерапии (ЛУФГТ) это заключается в пролонгации дезагрегации клеток крови до 5 суток (против только одних суток при ЛГТ), более значимом улучшении параметров иммунитета, особенно гуморального, и антиоксидантного потенциала крови.

Принципиально важны для клиники качественно новые патоспецифические эффекты, достигаемые в результате ЛУФГТ – непосредственное снижение уровня в крови средних молекул (на 12–60%) и ускорение их выведения с мочой в 6–12 раз, а также существенное снижение уровня в крови наиболее токсичных ЦИК малого размера.

Примером усиления этиоспецифического эффекта является комбинация МГТ до ГС с химиогемотерапией в процессе ГС, что за счет МГТ сопровождается двукратным ускорением темпа сорбции токсикантов (барбитуратов) и их выведения из крови.

Итогом оптимизации ДТ явились токсикометрические данные, касающиеся динамики периода полупребывания токсикантов в крови, и свидетельствующие об ускорении детоксикации организма с помощью физико-химических методов более чем в 1,5–3 раза – при их использовании как в комбинации с сорбционно-диализной детоксикацией, так и отдельно от нее. Выведение психофармакологических средств с мочой по сравнению с ГС также интенсифицируется, особенно на фоне сочетанной ФГТ.

Упомянутые эффекты ФГТ возможны только при тщательном дозировании применяемых воздействий на основе использования наиболее информативных (маркерных) клинико-лабораторных тестов – по *расходуемой энергии* (Дж) и *мощности* (Вт) как критериев ее эффективности, отклонения от оптимальных характеристик которых не только в

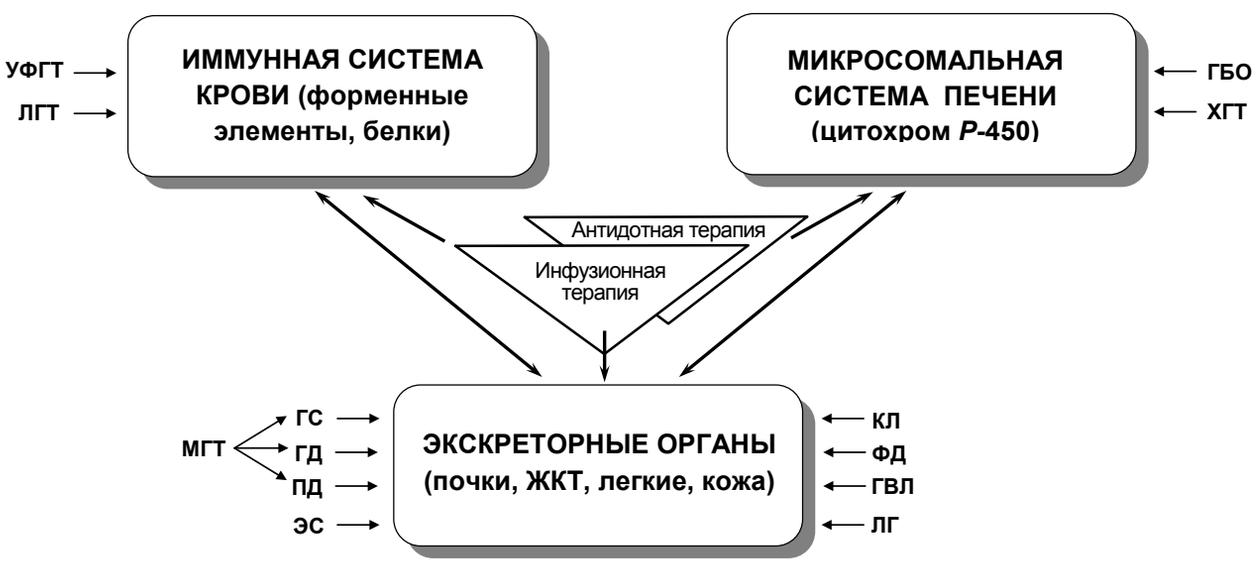


Рис. 1. Химический гомеостаз и его коррекция при острых отравлениях

Методы стимуляции естественных процессов детоксикации:

КЛ	- кишечный лаваж	ЛГТ	-лазерная гемотерапия
ФД	- форсированный диурез	ХГТ	- химиогемотерапия
ГБО	- гипербарическая оксигенация	ГВЛ	- гипервентиляция легких
МГТ	- магнитная гемотерапия	ЛГ	- лечебная гипо- и гипертермия
УФГТ	- ультрафиолетовая гемотерапия		

Методы искусственной детоксикации:

ГС - гемосорбция	ЭС - энтеросорбция
ГД - гемодиализ	ПА - плазмаферез
ПД - перитонеальный диализ	ОЗК - замещение крови

бо*л*ьшую, но и в меньшую сторону, например, при ЛГТ и ЛУФГТ приводят к снижению дезагрегационного эффекта или даже к возрастанию клеточной агрегации. Расходуемая энергия дозируется также с учетом объема крови, подвергнутой воздействию, и веса больного; последнее имеет принципиальное значение в педиатрической практике. Кроме того, как мера безопасности должна оцениваться *энергетическая экспозиция* (Дж/м^2), отражающая лучевую нагрузку на единицу площади крови.

Продемонстрированные данные позволяют сформулировать алгоритмы комплексной детоксикации. При среднетяжелых отравлениях рекомендуется сочетанная ФГТ и/или химиогемотерапия в качестве самостоятельных методов детоксикации в комбинации с традиционными методами усиления детоксикации (рис. 3). При тяжелых отравлениях (рис. 4) в комбинации с эфферентной терапией – сорбционно-диализной и КЛ используется ФХГТ (рис. 4 а). Либо применяется только ФГТ, включая ее сочетанный вариант через 6–12 ч после реализации основного детоксикационного комплекса (рис. 4 б), что делает детоксикацию и восстановление нарушенных показателей гомеостаза более полноценными. Важно, что комбинированное и сочетанное использование компонентов ДТ позволяет до минимума (в 2–3 раза) снизить интенсивность применяемых воздействий, что вносит существенный вклад в их безопасность.

Наш опыт свидетельствует о том, что реализация такого детоксикационного комплекса возможна с помощью оте-

Методы стимуляции естественных процессов очищения организма

I. СТИМУЛЯЦИЯ ВЫВЕДЕНИЯ:
1) очищение желудочно-кишечного тракта
• рвотные средства (апоморфин, ипекакуана);
• промывание желудка (простое, зондовое);
• промывание кишечника (зондовый лаваж 500 мл/кг – 30 л, клизма);
• слабительные средства (солевые, масляные, растительные);
• фармакологическая стимуляция перистальтики кишечника (KCl + питуитрин, серотонин-адипинат);
2) форсированный диурез
• водно-электролитная нагрузка (пероральная, парентеральная);
• осмотический диурез (мочевина, маннит, сорбит);
• салуретический диурез (лазикс);
3) лечебная гипервентиляция легких.
II. СТИМУЛЯЦИЯ БИОТРАНСФОРМАЦИИ:
1) регуляция ферментной функции гепатоцитов
• ферментная индукция (зиксорин, фенобарбитал);
• ферментная ингибиция (левомицетин, циметидин);
2) лечебная гипер- или гипотермия (пирогенал);
3) гипербарическая оксигенация.
III. СТИМУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ИММУННОЙ
СИСТЕМЫ КРОВИ:
1) ультрафиолетовая физиогемотерапия;
2) фармакологическая коррекция (тактивин, миелопид).

Антидотная (фармакологическая) детоксикация.

1) Химические противоядия (токсикотропные):
а) контактного действия;
б) парентерального действия.
2) Биохимические противоядия (токсикокинетические).
3) Фармакологические антагонисты (симптоматические).
4) Антитоксическая иммунотерапия.

Методы искусственной детоксикации

I. АФЕРЕТИЧЕСКИЕ:
1) плазмозамещающие препараты (гемодез);
2) гемаферез (замещение крови)
3) плазмаферез;
4) лимфаферез, перфузия лимфатической си¬стемы.
II. ДИАЛИЗНЫЕ И ФИЛЬТРАЦИОННЫЕ:
1) экстракорпоральные методы
• гемо- (плазмо-, лимфо-) диализ;
• ультрафильтрация;
• гемофильтрация;
• гемодиафильтрация;
2) интракорпоральные методы
• перитонеальный диализ;
• кишечный диализ.
III. СОРБЦИОННЫЕ:
1) экстракорпоральные методы
• гемо- (плазмо-, лимфо-) сорбция;
• аппликационная сорбция;
• биосорбция (селезенка), аллогенные клет¬ки печени;
2) интракорпоральные методы–
• энтеросорбция.
IV. ФИЗИО- И ХИМИОГЕМОТЕРАПИЯ ПРИ КОМБИНИРОВАН-НОМ И СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ:
1) ультрафиолетовая гемотерапия;
2) лазерная гемотерапия;
3) магнитная гемотерапия;
4) электрохимическое окисление крови (гипохлорит натрия);
5) озоногемотерапия.
V. МЕХАНИЧЕСКОЕ УДАЛЕНИЕ ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ
ИЗ ПОЛОСТЕЙ ОРГАНИЗМА
1) эндоскопические вмешательства
2) хирургические вмешательства

Рис. 2. Методы детоксикационной терапии

чественного оборудования, отличающегося хорошими рабочими характеристиками и относительно невысокой стоимостью.

Результатом комплексной детоксикации является более чем двукратное снижение летальности при отравлениях психофармакологическими средствами (ПФС). Резко (в 3,5–5 раз) снижается частота смертельных исходов от интоксикации, что подтверждает детоксикационный эффект ФГТ. Существенно сокращается длительность коматозных состояний. Снижается частота пневмоний (в 2–2,6 раза), особенно при использовании МГТ, уменьшается их тяжесть, так как воспалительный процесс в легких разрешается гораздо быстрее. При этом отчетливо проявляют себя сочетанная физио- и химиогемотерапия, в наибольшей степени воздействуя на коррекцию эндотоксикоза, что подчеркивает важность этой стороны ДТ.

В другой большой группе отравлений фосфорорганическими соединениями результаты аналогичны, причем при использовании меньшего объема детоксикации (без химиогемотерапии и ЛУФГТ). Это можно объяснить дополнительным воздействием физиогемотерапии (МГТ, УФГТ) в виде эффективного восстановления активности холинэстеразы крови, что при этих отравлениях имеет принципиальную значимость.

В целом оптимизация состава комплексной детоксикации на различных временны*х* этапах позволяет снизить летальность в токсикореанимационном отделении почти в 3 раза и действенно предупреждать развитие органной и полиорганной недостаточности, а также сепсиса.

Детоксикация продолжается и в реабилитационном периоде, начинающемся после окончания общереанимационных и экстренных детоксикационных мероприятий, где ее целью является дальнейшая коррекция сохраняющихся нарушений показателей гомеостаза и окончательное устранение эндотоксикоза. В том числе это может достигаться путем воздействия на центральную нервную систему в процессе неинвазивной интегративной терапии, осуществляемой с помощью мезодиэнцефальной модуляции (МДМ-терапия). Реабилитационная терапия предполагает также программное комбинированное медикаментозное и немедикаментозное лечение, например, с помощью мексидола, ЛГТ и ГБО. Указанные воздействия способствуют эффективной коррекции прежде всего ключевых – гемореологических нарушений, а также позволяют предупредить повышение в крови уровня средних молекул и сопровождаются наиболее интенсивным снижением значений гематологических индексов интоксикации – лейкоцитарного и индекса сдвига нейтрофилов, что характеризует положительную динамику в течении эндотоксикоза.

При отравлениях ПФС, осложненных дыхательными нарушениями, прижигающими жидкостями и в случаях энцефалопатии, развивающейся при отравлениях различными нейротоксикантами, это позволило заметно (в 1,3 раза) сократить сроки лечения.

В некоторых случаях для устранения депо токсикантов необходимо хирургическое или эндоскопическое вмешательство. Так, при отравлениях ртутью, введенной внутримышечно, для устранения ее депо требуются хирургический доступ и аспирация ртути под рентгенологическим контролем. При попадании ртути в организм внутривенным путем она может быть занесена кровотоком в легкие и полости сердца. При ее локальном скоплении в легких возможно оперативное лечение, в противном случае может возникнуть вопрос о трансплантации легких по жизненным показаниям. Возможна аспирация ртути из полостей сердца через катетер.

Рис. 3. Комплексная детоксикация при среднетяжелых отравлениях

ФД – форсированный диурез
ЛУФГТ – лазерно-ультрафиолетовая гемотерапия
ХГТ – химиогемотерапия
ЭС– энтеросорбция

Эндоскопические вмешательства могут потребоваться для извлечения токсичных веществ из желудка (например, салицилатов и барбитуратов), где они способны образовывать конгломераты, фиксируясь на слизистой желудка и снижая тем самым эффективность ДТ. Эндоскопическое или хирургическое пособие также могут быть необходимы в случаях повреждения пластиковых контейнеров с наркотиками в различных отделах желудочно-кишечного тракта при их заглатывании внутрь.

Как видно, при острых отравлениях прежде всего требуется детоксикационный подход, как правило, с помощью многокомпонентных неспецифических и немедикаментозных технологий. Усовершенствование же комплексной детоксикации тесно связано с техническими возможностями, характером токсикантов и осмыслением ее результатов на конкретных временных этапах, а также с последовательной реализацией новых требований к управлению детоксикационным процессом для достижения более чем аддитивного эффекта лечения. Это включает поиск биотропных, адекватных функционированию организма параметров применяемых воздействий, многофакторную оценку совместимости используемых методов ДТ, а также дозиметрический и лабораторный токсикометрический контроль на всех этапах детоксикации с синхронным мониторированием кинетики экзогенных и эндогенных токсикантов в биосредах и состояния параметров гомеостаза, что позволяет целенаправленно повышать эффективность детоксикации, обеспечивая при этом ее безопасность.

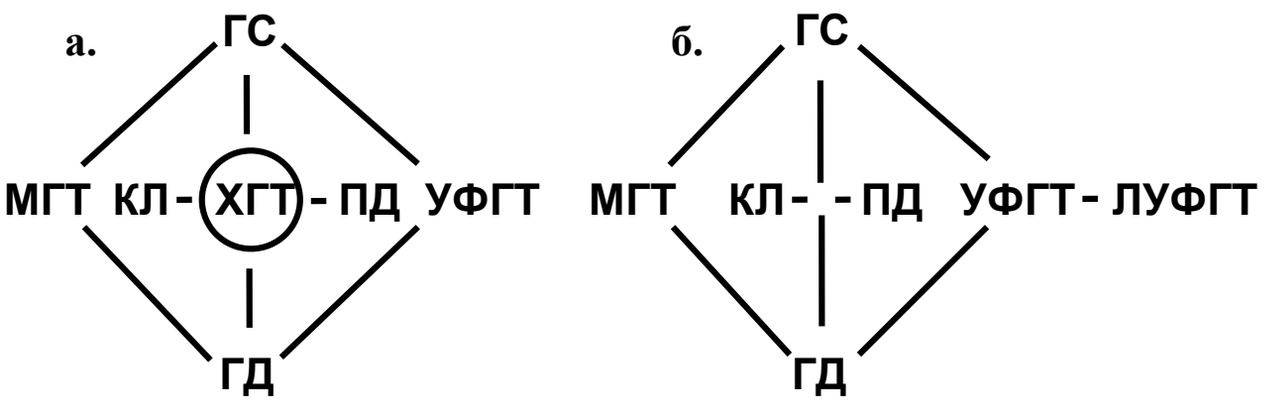


Рис. 4. Схемы комплексной детоксикации при тяжелых отравлениях

МГТ – магнитная гемотерапия
ГС – гемосорбция
КЛ – кишечный лаваж
ГД – гемодиализ
ПД – перитонеальный диализ
УФГТ – ультрафиолетовая гемотерапия
ЛУФГТ – лазерно-ультрафиолетовая гемотерапия
ХГТ – химиогемотерапия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Берхин Е.Б.* Роль почек в защите организма от ксенобиотиков // Фармакология и токсикология. 1986; 2: 104–105.
2. *Лопаткин Н.А., Лопухин Ю.М.* Эфферентные методы в медицине. М.: Медицина; 1989; 352.
3. *Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Мусселиус С.Г.* Детоксикационная терапия: руководство для врачей. СПб.: Лань; 2000; 192.
4. *Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С.* Физиогемотерапия острых отравлений. М.: Медпрактика-М; 2002; 200.
5. *Лапшин В.П., Красильников А.М., Гольдфарб Ю.С., Серая Э.В., Шипилов И.В., Кулакова О.И.* Электрическая стимуляция головного мозга на современном этапе развития восстановительной медицины. Рефлексотерапия. 2007; 2 (20): 50–54.
6. *Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Марупов А.М.* Эндотоксикоз при острых экзогенных отравлениях. М: БИНОМ; 2008; 200.
7. Медицинская токсикология: национальное руководство / под ред. Е.А. Лужникова. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012; 928.
8. Неотложная терапия острых отравлений и эндотоксикозов: справочник / под ред. Е.А. Лужникова. 2-е изд., перераб. и доп. М.: МИА; 2010; 472.
9. *Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Ильяшенко К.К., Бадалян А.В., Белова М.В., Ельков А.Н.* и др. Реабилитация больных при острых отравлениях: методические рекомендации № 17. М.: НИИ СП им. Н.В. Склифосовского; 2013; 13.

REFERENCES:

1. *Berkhin E.B.* The role of kidneys in the body defense against xenobiotics. Farmakologiya i Toxicologiya; 1986; 2:104–105 (in Russian).
2. *Lopatkin N.A., Lopukhin Yu.M.* Efferent methods in medicine. Moscow: Meditsina; 1989; 352 (in Russian).
3. *Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S., Musselius S.G.* Detoxication therapy (Manual for Physicians). St. Petersburg: Lan; 2000; 192 (in Russian).
4. *Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S.* Physiohemotherapy for acute poisoning. Moscow: Medpractika-M; 2002; 200 (in Russian).
5. *Lapshin V.P., Krasilnikov A.M., Goldfarb Yu.S., Seraya E.V., Shipilov I.V., Kulakova O.I.* Electrical stimulation of the brain at a current stage of rehabilitation medicine development. Reflexoterapiya; 2007; 2 (20): 50–54 (in Russian).
6. *Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S., Marupov A.M.* Endotoxicosis in acute exogenous poisoning. Moscow: BINOM Publishers; 2008. 200 (in Russian).
7. Medical Toxicology: National Guidelines, ed. E.A. Luzhnikov. Moscow: GEOTAR-Media; 2012; 928 (in Russian).
8. Urgent therapy for acute poisoning and endotoxicoses: Handbook, ed. E.A. Luzhnikov. 2nd ed.; Moscow: Medical Informational Agency; 2010; 472 (in Russian).
9. *Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S., Ilyashenko K.K., Badalyan A.V., Belova M.V., Elkov A.N.* et al. Rehabilitation of patients with acute poisoning: Guidelines № 17. Moscow: Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; 2013; 13 (in Russian).

E.A. Luzhnikov, Yu.S. Goldfarb, A.V. Badalyan

PRESENT-DAY DETOXIFICATION THERAPY FOR ACUTE POISONINGS OF CHEMICAL ETIOLOGY

N.V.Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow Health care Department, 129090, Moscow
Russian Medical Academy of Postgraduate Education Studies, Public Educational Institution of Higher Professional Postgraduate Education of the Russian Federation Healthcare Ministry, 123242, Moscow, Russian Federation

Detoxficacation therapy is the main component in the treatment of pronounced manifestations of acute poisoning. At toxicogenic stage, it is the most effective when integrated with the use of efferent (sorption and dialysis) methods of artificial detoxification, gut lavage, and physico- chemical hemotherapy, including ultraviolet, laser, magnetic chemotherapy and sodium hypochlorite infusions. In the rehabilitation period, the most optimal is the therapy course using a combination of pharmacological and non-pharmacological treatments. A detoxification approach allows to obtain a rapid correction of impaired homeostasis indicators, to reduce severity of endotoxicosis and with that the elimination of exogenous toxicants from the body occurs more than 3-fold faster. In some cases surgical and endoscopic interventions are required to remove a toxicant depot. As a result, mortality rate, incidence and severity of complications, specifically infectious and septic ones, significantly decrease and the recovery period substantially shortens.

Key words: *acute poisoning, artificial detoxification methods, complex detoxification, physic-chemical hemotherapy.*
Материал поступил в редакцию 11.03.2014 г.

УДК 619:616.98:579.873.21:616-07

ВЛИЯНИЕ ИНТОКСИКАЦИИ СТОЙКИМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ ЗАГРЯЗНИТЕЛЯМИ И ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА ТЕЧЕНИЕ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

И.А. Застенская[1], А.П. Лысенко[2], В.В. Кочубинский[3], А.В. Кочубинский[3]

[1]ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь
[2]РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь
[3]Белорусский государственный медицинский унивеситет, г.Минск, Республика Беларусь

Было изучено влияние воздействия химических веществ на течение туберкулезной инфекции в эксперименте с целью выявления их иммунотоксических свойств. После 9 месячной затравки морских свинок в условиях вивария солями кадмия, свинца, хрома, ТХДД, ПХБ в дозах, соотвествующих или ниже допустимых суточных, животных заразили *Mycobacterium bovis* 8. У затравленных животных после заражения отмечена прогрессирующая потеря живой массы, достоверно более интенсивные аллергические реакции на ППД туберкулин и комплексный аллерген из атипичных микобактерий, а также более тяжелое течение инфекции, что, вероятно, обусловлено влиянием токсикантов на механизмы иммунной системы, контролирующие размножение микобактерий.

Ключевые слова: *стойкие загрязнители, металлы, экспериментальный туберкулез, иммунитет.*

Введение. Контаминанты окружающей среды, воздействуя в малых концентрациях, могут негативно влиять на человека и животных [6,7,8,10], в том числе вызывать иммунодефицитные состояния и снижать естественную резистентность к инфекциям [2,3]. Получение экспериментальных доказательств влияния химикатов (ХВ) в допустимых дозах, например, в отношении туберкулеза, из-за мировой тенденции роста заболеваемости [1,5,9], представляется актуальным. *Целью данной работы* являлось изучение иммунотоксического действия комплекса ХВ в допустимых дозах при нагрузке in vivo

Материалы и методы. Морских свинок (14 штук) затравливали тетрахлордибензодиоксином (ТХДД), полихлорированными бифенилами (ПХБ) и тяжелыми металлами в течение 9 месяцев 5 дней в неделю, начиная с возраста 1 месяц. Животных опытной и контрольной групп (по 7 в каждой) содержали в условиях вивария на обычном рационе. ХВ добавляли в пищу опытной группе с индивидуальным контролем поедания пищи каждым животным. Жирорастворимые ХВ (ПХБ28, 52, 101, 138, 153, 209, ТХДД) вводили в рацион с подсолнечным маслом, водорастворимые (ацетат свинца, хлорид кадмия, дихромат калия) – в водном растворе. Дозы определяли, исходя из веса животного: металлы в пересчете на ион металла – кадмий – 0,2 мкг/кг/сут, свинец – 1,3 мкг/кг/сут, хром – 0,6 мкг/кг/сут, ТХДД – 4 пг/кг/сут, ПХБ – 20 нг/кг/сут [4,7,8].

После затравки животным опытной и контрольной групп подкожно вводили суспензию M. bovis 8 (МБТ) в дозе по 0,1 мг в область паха. На 30 и 60 сутки проводили постановку кожных тестов с туберкулином (25 и 10 МЕ\0,2мл) и комплексным аллергеном атипичных микобактерий (КАМ, Курской биофабрики -1:200 и 1:400). На 100 сутки выполнялась аутопсия с условной, принятой для целей данного эксперимента, оценкой показателей в баллах: потеря живой массы -1 балл, единичные гранулемы - 0,5, увеличение регионарных паховых лимфатических узлов - 0,5, множественные гранулемы - 1,5 балла, единичные пузырьковидные изменения, возвышающиеся над поверхностью легких и отличающиеся по цвету от нормальной ткани -1,5, увеличение печени и селезенки по сравнению со средними значениями для здоровых животных - 0,5.

Мазки-отпечатки легких, печени и лимфатических уз-

Застенская Ирина Алексеевна (Zastenskaya Irina Alekseevna), к.м.н., доцент, эксперт «Республиканский научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь, izastenskaya@gmail.com
Лысенко Александр Павлович (Lysenko Alexandr Pavlovich), д.вет. н., профессор, зав. лабораторией института экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, г. Минск, Республика Беларусь, lysenkoap@tut.by
Кочубинский Валентин Витальевич (Kochubinsky Valentin Vitalievich), к.м.н., доцент кафедры Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь, vkochubinsky@outlook.com
Кочубинский Алексей Валентинович (Kochubinski Alexei Valentinovich), студент Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь

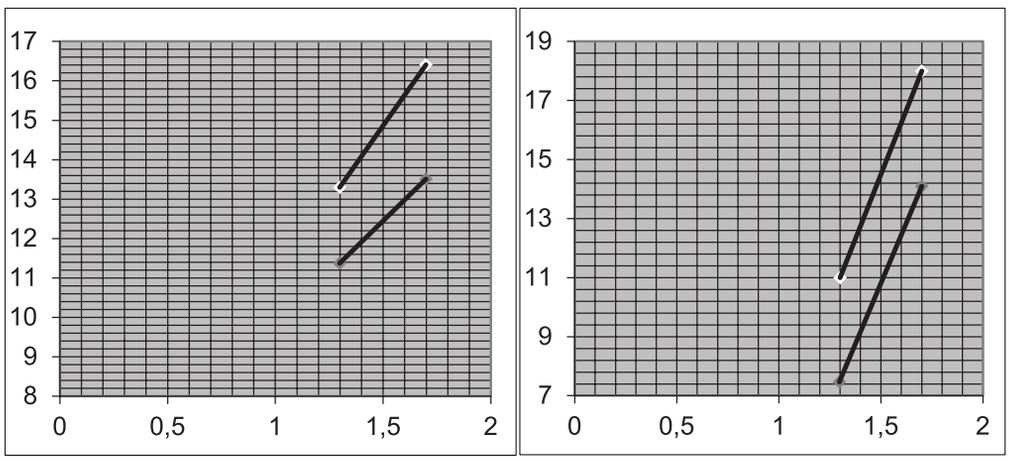


Рис. 1. Зависимость интенсивности ГЗТ к ППД туберкулину от lg его дозы у морских свинок, затравленных ХВ (верхняя линия) и у контрольных животных через 30 суток(слева) и 60 суток(справа) после заражения (по оси абсцисс – lg дозы туберкулина, по оси ординат – диаметр папул в мм)

лов, места введения культуры окрашивали по Циль-Нильсену, конъюгатом пероксидазы и аффинно-очищенными кроличьими IgG к антигенам M.bovis (1:100). Субстратом при окрашивании служил диаминобензидин (ДАБ) с перекисью водорода. Для инактивации эндогенной пероксидазы мазки после фиксации обрабатывали 3% перекисью водорода. Бактериологический посев материала легких, печени и лимфатических узлов после обработки 4% серной кислотой проводили индивидуально в 10 пробирок среды Левенштейна-Иенсена с последующей инкубацией при 37^{0}С. Через 60 суток подсчитывали число КОЕ на 1 пробирку.

Результаты и обсуждение. У морских свинок обеих групп через 30 суток после заражения отмечено снижение живой массы с 4942 г до 4468 г (9,6%) в контроле и с 4961 г до 4772 г (3,8 %) в опытной группе. Через 60 суток морские свинки контрольной группы восстановили общую живую массу, а у подвергшихся воздействию ХВ, она достоверно снизилась до 4130г (13%). На 90 сутки снижение веса было сопоставимо в обоих группах.

Через 30 суток после заражения МБТ морским свинкам была поставлена реакция ГЗТ на ППД туберкулина и КАМ. ГЗТ была более выражена у морских свинок, затравленных ХВ (табл.1).

При расчете зависимости интенсивности аллергических реакций от логарифма дозы ППД туберкулина расстояние между линиями активности у морских свинок опытной и контрольной группы составило 0,4 lg (рис.1).

Antilg 0,4 составляет 2,51, что указывает на то, что затравленные животные в 2,51 раза интенсивнее реагировали на те же дозы туберкулина, чем особи контрольной группы.

Через 60 суток закономерность сохранилась, хотя разница была не столь значительна. Животные с интоксикацией в 1,78 раза (antilg 0,25) интенсивнее реагировали на ППД туберкулин (рис.1).

Реакции на КАМ у животных контрольной группы были практически ниже критерия положительной оценки. В тоже время у затравленных морских свинок они были положительными. Результаты аутопсии и бактериологического исследования заметно отличались (табл.2).

Изменения в легких, печени, селезенке были в виде единичных гранулем с маковое зерно и пузырьков в легких, но наблюдались не у всех животных. Средний индекс поражений в контрольной группе составил 2,64, в опытной -3,93.

Таблица 1

ГЗТ к микобактериальным аллергенам у морских свинок с экспериментальной туберкулезной инфекцией на фоне затравки ХВ

Группы	Диаметр папул в мм через 24 ч			
	ППД 25МЕ	ППД 10МЕ	КАМ 1:200	КАМ 1:400
Контрольная^X	13,5 ±2,6	11,4 ±2,2	5,4±0,83	4,3±0,32
Опытная	16,4 ±1,8	13,3 ±1,4	7,1±1,1	5,1±0,81
Контрольная^{XX}	14,1±2,1	7,4±1,6	4,3±0,26	4,3±0,26
Опытная ^{XX}	18±2,2	11±2,1	7,2±2,5	4,8±1,0

^{X}- через 30 суток, ^{XX}- через 60 суток

Микроскопия мазков-отпечатков из органов (окраска по Цилью-Нильсену) у животных контрольной группы была в большинстве случаев отрицательной. В мазках-отпечатках из органов животных опытной группы гораздо чаще и в больших количествах обнаруживали рубиново-красные палочки (рис.2).

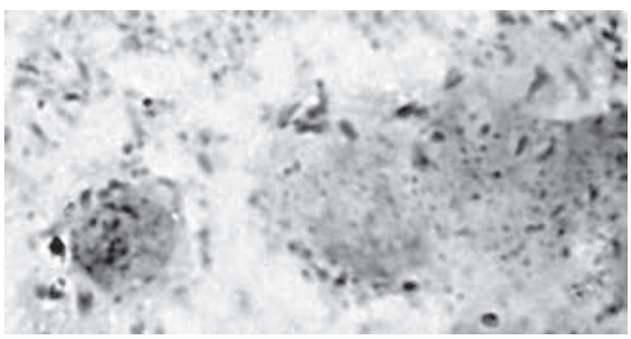


Рис. 2. Отпечаток легкого морской свинки опытной группы. Видны многочисленные рубиново-красные формы МБТ (окраска по Циль-Нильсену, 10х100).

При иммунопероксидазном окрашивании отпечатков у животных контрольной группы обнаруживали единичные, специфически окрашенные клетки; у опытной группы - многочисленные участки со специфической коричневой окраской (локализация антигенов *M.bovis*) и макрофаги «набитые» специфически окрашенными клетками МБТ (рис. 3).

При посеве навесок органов на среду Левенштейна-Иенсена среднеарифметическое число выросших КОЕ (на 1 пробирку) было достоверно больше у животных, подвергнутых затравке ХВ (23,8 при 10,7 КОЕ в контрольной группе).

Выбранные условия заражения морских свинок обеспечили возникновение слабо прогрессирующей туберкулезной инфекции без развития значительных туберкулезных изменений, что дало возможность более тонко выявить влияние ХВ на этот процесс.

Таким образом, у животных, получивших нагрузку ХВ,

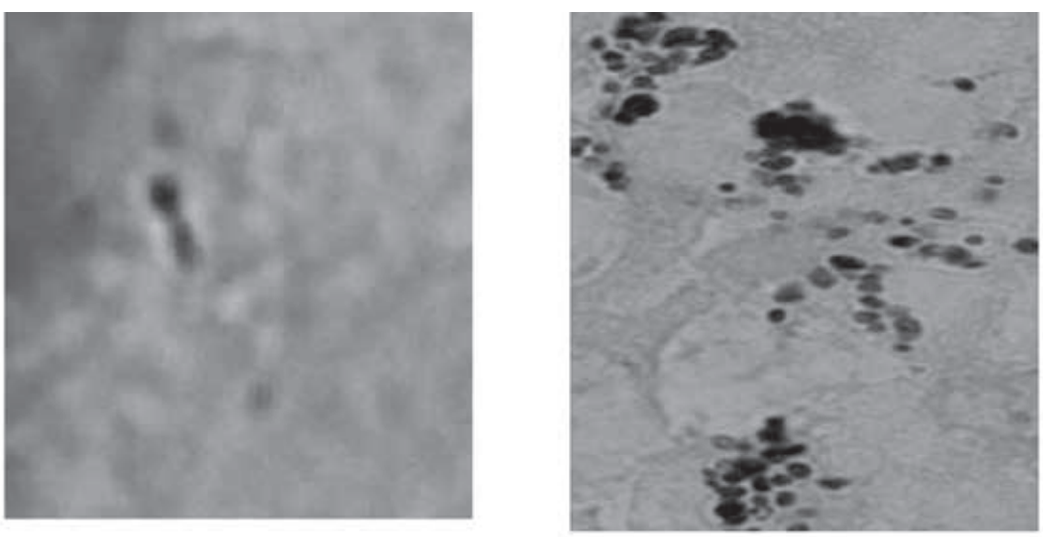


Рис.3. Иммунопероксидазное окрашивание контрольной морской свинки (слева) и затравленной ХВ (справа); видны многочисленные участки локализации антигенов *M.bovis* (ДАБ, 10х100)

Таблица 2

Результаты аутопсии и бактериологического исследования морских свинок, зараженных *M.bovis* контрольной и опытной групп

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Выжило животных	7	6
Индекс патологических изменений	2,64	3,93
Микроскопия отпечатков из органов (по Циль-Нильсену)	Единичные рубиново-красные палочки	Многочисленные рубиново-красные палочки
Микроскопия отпечатков из органов (иммуно-пероксидазное окрашивание антителами к *M.bovis)*	Единичные ко-ричневые палочки, дипло- и тетракокки	Масса коричневых форм
Посев гомогенатов органов на среду Левенштена-Иенсена (КОЕ на пробирку)	10,7	23,8

отмечены: потеря живой массы, более выраженная реакция ГЗТ с туберкулинином, тяжелое течение инфекции, подтвержденное микроскопией органов и результатами бактериологического посева.

Выводы. 1. Хроническая интоксикация кадмием, свинцом, хромом, ТХДД, ПХБ в допустимых и ниже дозах, вызывает нарушение функционирования иммунной системы, проявляющееся в существенном утяжелении течения туберкулезной инфекции.

2. Моделирование in vivo инфекционных процессов может быть рекомендовано для выявления скрытых нарушений функций иммунной системы при нормировании химическим веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Земскова З.С.* Скрыто протекающая туберкулезная инфекция / З.С. Земскова, Н.И. Дорожкова. - М.: Медицина. - 1984. - 221с.
2. *Касохов Т.Б.* Вторичная иммунная и интерфероновая недостаточность у детей при экопатогенном воздействии свинца, кадмия, цинка: автореф. дисс. ... д-ра мед наук: 14.00.09 / Т.Б. Касохов; Северо-Осетин. гос. мед. акад. - М.: [б. и.], 1999. - 35 с.
3. *Утенин В.В.* Гигиеническая характеристика хрома и бензола и морфофункциональные аспекты их воздействия на организм в условиях эксперимента: автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.00.07, 03.00.25 / В.В. Утенин; Оренбург. гос. мед. акад. - Оренбург: [б. и.], 2002. - 24 с.
4. Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI) /WHO Consultation May 25-29 1998, Geneva, Switzerland. – 28 P.
5. Burns-Naas LA, et al. What's so special about the developing immune system? //Int. J.l of Toxicology, 2008 . - N 27(2). – P. 223–254.
6. Chromium / The UN Environmental progr., the Intern. Labour Org. a. theWHO: BO3. - Geneva: WHO, 1988. - 197 p.
7. Dietary Supplement –Standart 173.Metal Contaminants Acceptable level, NSF International. – US EPA, 2003. – 22 C.
8. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request from the Commission Related to the Presence of Non-dioxin-like Polyshlorinatedbiphenils (PCB) in Feed and Food / The EFSA Journal, 2005. – V.284. – C. 1 -137
9. Ptasekas R. et al Ecological Pathology of city inhabitants in Lithuania / Ecologiya, 2004 N 3 P-6-16
10. Toxiological profile for cadmium / Research Triangle Inst. - Atlanta: U.S. Dep. of Health & Human Services, 1999.-397 p.

REFERENCES:

1. *Zemskova Z.S.* Latent tuberculosis infection / Z.S. Zemskova, N.E. Dorozhkova. - M.: Medicine. - 1984. – 221 P. (in Russian).
2. *Kasokhov T.B.* Secondary immune and interferon insufficiency in children in eco-pathogenic exposure to lead, cadmium, and zinc: summary of thesis. ... DSci: 14.00.09 / T.B. Kasokhov; State med. Acad. of Nothern-Osetia. - M.: [b. e.], 1999. - 35 P. (in Russian).
3. *Utenin V.V.* Hygienic characteristics of chromium and benzene and morpho-physiological aspects of their influence on organism in experiment: summary of thesis … PhD: 14.00.07, 03.00.25 / V.V. Utenin; Orenburg State Med. Acad. – Orenburg: [b. e.], 2002. - 24 P. (in Russian).
4. Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI) /WHO Consultation May 25-29 1998, Geneva, Switzerland. – 28 P.
5. Burns-Naas LA, et al. What's so special about the developing immune system? //Int. J.l of Toxicology, 2008 . - N 27(2). – P. 223–254.
6. Chromium / The UN Environmental progr., the Intern. Labour Org. a. theWHO: BO3. - Geneva: WHO, 1988. - 197 p.
7. Dietary Supplement –Standart 173.Metal Contaminants Acceptable level, NSF International. – US EPA, 2003. – 22 C.
8. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request from the Commission Related to the Presence of Non-dioxin-like Polyshlorinatedbiphenils (PCB) in Feed and Food / The EFSA Journal, 2005. – V.284. – C. 1-137
9. *Ptasekas R.* et al Ecological Pathology of city inhabitants in Lithuania / Ecologiya, 2004 N 3 P-6-16
10. Toxiological profile for cadmium / Research Triangle Inst. - Atlanta: U.S. Dep. of Health & Human Services, 1999. - 397 p.

I.A. Zastenskaya, A.P.Lysenko, V.V.Kochubinsky, A.V. Kochubinski

INFLUENCE OF EXPOSURE TO PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS AND HEAVY METALS ON THE DEVELOPMENT OF TUBERCULOSIS INFECTION

Republican Scientific and Practical Center for Hygiene, 220012 Minsk, Belarus
Republican Unitary Enterprise «S.N. Vyshelessky Institute of Experimental Veterinary Medicine», Minsk, Belarus
Belorussian State Medical University, Minsk, Belarus

The influence of exposure to chemicals on the development of tuberculosis was studied in experiment to investigate immunotoxic properties of chemicals mixture. After a chronic exposure (during 9 month) of guinea pigs in a housing room to cadmium, lead, chromium, TCDD and PCBs in doses that correspond to threshold values or lesser, they were infected by Mycobacterium bovis 8. In animals that were exposed to chemicals mixture, were observed a progressing loss of weight, intensive allergic responses to tuberculin sub-threshold doses, complex allergen of atypical mycobacteria and severe development of tuberculosis infection, that probably is caused by toxic influence on the immune system mechanisms controlling mycobacterium reproduction.

Key words: *experimental tuberculosis, immune system, metals, POPs.*

Материал поступил в редакцию 27.02.2014 г.

УДК 547-3 : 615.917

АКТИВАЦИЯ α7N-АЦЕТИЛХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ КАК ФАКТОР СНИЖЕНИЯ ЛЕТАЛЬНОСТИ В РАННЕЙ ФАЗЕ СЕПСИСА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

П.Ф. Забродский,
М.С. Громов,
В.В. Масляков

Филиал НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «РЕАВИЗ», 410004, г. Саратов

В экспериментах на неинбредных мышах установлено, что фосфорорганическое соединение диметилдихлорвинилфосфат за 2 ч до моделирования сепсиса (внутрибрюшинное введение взвеси микробных тел *E. coli*) существенно уменьшает летальность мышей в результате активации α7n-ацетилхолинорецепторов (α7nAChR) ацетилхолином и снижения в крови провоспалительных цитокинов ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6.

Ключевые слова: *фосфорорганические соединения, анабазин, сепсис, α7n-ацетилхолинорецепторы, провоспалительные цитокины.*

Введение. В 1987 г. было установлено, что острое отравление необратимым ингибитором холинэстеразы арамином, вызывающим выраженную холинергическую стимуляцию, существенно снижает летальность белых мышей от сепсиса [1], а в последующем доказана целесообразность применения холиномиметиков для экстренной активации неспецифической антимикробной резистентности организма при различных инфекционных процессах [2, 3, 4]. Выявленный феномен обеспечивается реализацией холинергического антивоспалительного пути – «cholinergic anti-inflammatory pathway» [2, 4, 5, 6], который включает: активацию м-холинорецепторов (mAChR) головного мозга, модулирующих иммунорегуляторную функцию блуждающего нерва; возбуждение эфферентных волокон n. vagus; действие ацетилхолина (АЦХ) на α7n-ацетилхолинорецепторы (α7nAChR) макрофагов, моноцитов, нейтрофилов и лимфоидных дендритных клеток. В этих клетках возникновение антивоспалительного эффекта обеспечивается киназой JAK2; фактором транскрипции STAT3; транскрипционным фактором NF-κB. Под влиянием холинергической стимуляции реализация данных биохимических механизмов в макрофагах, моноцитах, нейтрофилах ингибирует продукцию ими фактора некроза опухоли-α (ФНО-α), протеина B1 – HMGB1, макрофагально-воспалительного протеина-2 – MIP-2, интерлейкинов – ИЛ-1β, ИЛ-6 [5, 7]. Активация АЦХ холинергических рецепторов клеток фагоцитарно-моноцитарной системы (ФМС) приводит к снижению летальности от сепсиса [2, 3, 4, 8] вследствие уменьшения продукции этими клетками провоспалительных цитокинов (ПВЦ) [4, 8]. Доказано, что такой же эффект способен вызвать м-холиномиметик ацеклидин, действующий на mAChR ядра n. vagus продолговатого мозга [4].

Установлено, что при введении фосфорорганических соединений (ФОС) до моделирования сепсиса вызывают снижение летальности мышей от экспериментального инфекционного процесса вследствие эффекта АЦХ [3]. До сих пор не вполне ясна роль активации α7nAChR в уменьшении летальности животных после отравления ФОС и последующем моделировании сепсиса [3].

Изучение возможности снижения летальности при сепсисе путем воздействия на различные участки холинергического антивоспалительного пути (cholinergic anti-inflammatory pathway), в частности, при помощи активаторов α7nAChR, в настоящее время представляют большой интерес [4, 9, 10].

Забродский Павел Францевич (Zabrodskii Pavel Franzevich), доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, профессор кафедры медико-биологических дисциплин Саратовского филиала НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «РЕАВИЗ» (Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»), pfzabrodsky@gmail.com
Громов Михаил Сергеевич (Gromov Mihail Sergeevich), доктор медицинских наук, профессор, ректор Саратовского филиала НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «РЕАВИЗ» (Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»), saratov@reaviz.ru
Масляков Владимир Владимирович (Maslyakov Vladimir Vladimirovich), доктор медицинских наук, профессор, проректор по научной работе Саратовского филиала НОУ ВПО «Самарский медицинский институт «РЕАВИЗ», заведующий кафедрой клинической медицины, maslyakov@inbox.ru

Целью исследования являлось оценка роли активации α 7nAChR анабазином в снижении летальности от сепсиса мышей и уменьшении концентрации в крови провоспалительных цитокинов ФНОα, ИЛ-1β и ИЛ-6 при остром отравлении ФОС.

Материал и методы исследования. Эксперименты проводили на нелинейных белых мышах обоего пола массой 18–22 г. в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (приказ Минздравразвития России от 23 августа 2010 г., №708н). Активацию α7nAChR осуществляли подкожным введением анабазина [11] (Sigma-Aldrich) в дозе 0,5 DL_{50} за 2 ч до моделирования сепсиса. Эффект анабазина сравнивали с эквилетальной дозой (0,5 DL_{50}) ФОС (диметилдихлорвинилфосфата – ДДВФ) (Sigma-Aldrich). (DL_{50} анабазина, ДДВФ составляли для мышей при подкожном введении соответственно 10,6±1,2 и 43,5±4,0 мг/кг. Через 2 ч после применения холинергических препаратов (ХП) у мышей вызывали сепсис внутрибрюшинным введением $2,5 \cdot 10^9$ суточной культуры микробных тел *E. Coli* [1, 4, 12]. В контрольную группу 1 входили мыши, которым вводили изотонический раствор хлорида натрия соответственно подкожно (0,5 мл), а через 2 ч – внутрибрюшинно (2,0 мл). Регистрацию летальности мышей после моделирования сепсиса проводили через 4 и 24 ч без применения ХП (контрольная группа 2; мыши за 2 ч до введения взвеси *E. coli* получали подкожно по 0,5 мл изотонического раствора хлорида натрия), а также с использованием ДДВФ и анабазина (группы 3, 4 соответственно). Концентрацию ПВЦ ФНО-α, ИЛ1 β и ИЛ-6 исследовали в плазме крови всех групп мышей методом ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA), используя наборы (ELISA Kits). Кровь для исследований забирали из ретроорбитального венозного синуса. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия достоверности Стьюдента.

Результаты и обсуждение. При острой интоксикации ДДВФ (0,5 DL_{50}), сопровождающейся активацией как mAChR, так и nAChR, в том числе и α7nAChR (применение ФОС за 2 ч до моделирования сепсиса) после введения взвеси *E. coli* через 4 ч происходило снижение летальности мышей по сравнению с контрольной группой 2 (сепсис) на 11,7%, в 1,88 раза ($p < 0,05$), а через 24 ч – на 26,7%, в 1,42 раза ($p < 0,05$).

Активация α7nAChR анабазином [11] в эквилетальной дозе (0,5 DL_{50}) при таком же сроке применения препарата до моделирования сепсиса после введения *E. coli* через 4 ч приводила к уменьшению летальности мышей по сравнению с контрольной группой 2 (сепсис) на 16,7%, в 3,01 раза ($p < 0,05$), а через 24 ч – на 41, 4%, в 1,85 раза ($p < 0,05$) (табл. 1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что острая интоксикация ФОС и активация α7nAChR анабазином в эквилетальной дозе (0,5 DL_{50}) существенно увеличивают выживаемость животных в ранней фазе сепсиса. При этом эффект активации α7nAChR анабазином более выражен, чем действие ФОС, однако, отличия показателей (летальности) статистически не значимы ($p > 0,05$).

При сепсисе (контрольная группа 2) в крови существенно увеличивалось содержание ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6 по сравнению с группой 1 (интактные животные), особенно выраженное через 4 ч после внутрибрюшинного введения взвеси *E. coli* (соответственно в 20,22 и 27,50 и 61,15 раза ($p < 0,05$) (табл. 2).

Острое отравление ДДВФ за 2 ч до моделирования сепсиса приводило через 4 ч после введения *E. coli* мышам (группа 3) к снижению концентрации в крови ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6 по сравнению показателями при сепсисе (контрольная группа 2) без применения ФОС соответственно в 2,51; 1,77 и 5,88 раза ($p<0,05$).

Активация α7nAChR анабазином в дозе 0,5 DL_{50} за 2 ч до введения *E. coli* мышам (группа 4) вызывала редукцию содержания в крови животных ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6 после моделирования сепсиса через 4 ч по сравнению параметрами контрольной группы 2 (сепсис) соответственно в 3,18; 2,21 и 7,76 раза ($p < 0,05$).

После моделирования сепсиса через 24 ч концентрация ФНО-α в крови мышей (группы 2, 3, 4) по сравнению с показателями контрольной группы 1 существенно не изменялась. В этот же период содержание ИЛ-1β и ИЛ-6 при сепсисе (контрольная группа 2) увеличивалось по сравнению с показателями контрольной группы 1 соответственно в 4,72 и 7,19 раза ($p < 0,05$). При остром отрав-

Таблица 1

Влияние ФОС и активатора α7nAChR анабазина (применение за 2 ч до введения взвеси *E. coli*) на летальность мышей после моделирования сепсиса (M±m)

Серии опытов	Срок исследования летальности после введения E. coli, ч	
	4	24
Сепсис (контрольная группа 2, n = 40)	25,0±6,8	90,0±4,7
ДДВФ + сепсис (группа 3, n = 30)	13,3±6,2*	63,3±8,8*
Анабазин + сепсис (группа 5, n = 35)	8,3±4,6*	48,6±8,3*

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем (группа 2).

лении ДДВФ и применении анабазина за 2 ч до моделирования сепсиса через 24 ч после введения *E. coli* мышам концентрация ИЛ-1β в крови была меньше данного показателя в контрольной группе 2 (сепсис) соответственно в 1,67 ($p > 0,05$) и 1,89 раза ($p > 0,05$), а содержание ИЛ-6 – соответственно в 2,38 ($p < 0,05$) и 2,42 раза ($p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что снижение летальности мышей при сепсисе после острого отравления ФОС (ДДВФ) обусловлено активацией α 7nAChR клеток и уменьшением продукции ими ПВЦ. Данные литературы свидетельствуют о том, что активируются α7nAChR моноцитов, макрофагов, нейтрофилов, а также лимфоидных дендритных клеток [4, 5, 7, 8, 13].

Активация α7nAChR ингибиторами ацетилхолинэстеразы и другими н-холиномиметиками клеток не только ФМС, но и других систем и органов может рассматриваться как перспективный способ одного из направлений лечения септических состояний, а также других патологических состояний (заболеваний) [2, 9, 14].

Выводы. 1. Острая интоксикация ФОС и активация α 7nAChR анабазином в эквилетальной дозе (0,5 DL_{50}; применение препаратов за 2 ч до моделирования сепсиса) после внутрибрюшинного введения взвеси микробных тел *E. coli* через 4 и 24 ч существенно увеличивают выживаемость мышей в ранней фазе сепсиса.

2. При острой интоксикация ФОС и активации α 7nAChR анабазином в эквилетальной дозе (применение препаратов за 2 ч до моделирования сепсиса) после внутрибрюшинного введения взвеси микробных тел *E. coli* через 4 и 24 ч отмечается уменьшение в крови концентрации провоспалительных цитокинов.

3. Снижение летальности мышей при сепсисе при остром отравлении ФОС (ДДВФ) обусловлено активацией α7nAChR.

Таблица 2

Влияние ФОС и активатора α 7nAChR анабазина (применение за 2 ч до введения взвеси *E. coli*) на концентрацию провоспалительных цитокинов в крови мышей после моделирования сепсиса, пг/мл (M±m)

Серии опытов	ФНОα		ИЛ1β		ИЛ-6	
	4	24	4	24	4	24
Контрольная группа 1	23±3 (7)	25±4 (7)	14±3 (7)	18±4 (7)	26±5 (7)	20±4 (7)
Сепсис (контрольная группа 2)	465±48[a] (7)	36±9[c] (4)	385±39[a] (7)	85±23[ac] (4)	1590±180[a] (6)	143±37[ac] (4)
ДДВФ + сепсис (группа 3)	185±21[ab] (6)	31±4[c] (6)	218±23[ab] (6)	45±5[ac] (7)	270±30[ab] (7)	60±7[abc] (7)
Анабазин + сепсис (группа 4)	146±16[ab] (7)	20±4[c] (7)	174±18[ab] (7)	51±6[ac] (7)	205±25[ab] (7)	59±6[abc] (7)

Примечание. 4 и 24 – время после моделирования сепсиса, ч; в скобках – число животных; [a] – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой 1; [b] – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим параметром при сепсисе (контрольная группа 2); [c] – $p < 0,05$ по сравнению с показателем через 4 ч.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Забродский П.Ф.* Влияние армина на факторы неспецифической резистентности организма и первичный гуморальный ответ. Фармакология и токсикология. 1987; 49(2); 57–60.
2. *Забродский П.Ф.* Изменение антиинфекционной неспецифической резистентности организма под влиянием холинергической стимуляции. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1995; 119 (8): 164–167.
3. *Забродский П.Ф.* Механизм снижения летальности в ранней фазе сепсиса при остром отравлении фосфорорганическими соединениями. Токсикологический вестник. 2011; 1: 2–5.
4. *Забродский П.Ф., Лим В.Г., Шехтер М.С., Кузьмин А.В.* Роль м- и н-холинорецепторов в реализации холинергического антивоспалительного механизма в ранней фазе сепсиса. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012; 153 (5): 656–659.
5. *Oke S.L., Tracey K.J.* From CNI-1493 to the immunological homunculus: physiology of the inflammatory reflex. J. Leukoc. Biol. 2008; 83(3): 512-517.
6. *Tracey K.J.* Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. J. Clin. Invest. 2007; 117 (2): 289– 296.
7. *Borovikova L.V., Ivanova S., Zhang M., Yang H., Botchkina G.I., Watkins L.R. et al.* Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. Nature. 2000; 405 (6785): 458–462.
8. *Pavlov V.A.* Cholinergic modulation of inflammation. Int. J. Clin. Med. 2008; 1 (3): 203–212.
9. *Newham P., Ross D., Ceuppens P., Das S., Yates J.W., Betts C. et al.* Determination of the safety and efficacy of therapeutic neutralization of tumor necrosis factor-α (TNF-α) using AZD9773, an anti-TNF-α immune Fab, in murine CLP sepsis. Inflamm. Res. 2014; 63(2): 149–160.
10. *Pohanka M.* Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor is a target in pharmacology and toxicology. Int. J. Mol. Sci. 2012; 13 (2): 2219–2238.
11. *Welch K.D., Pfister J.A., Gardner D.R., Green B.T., Panter K.E.* The role of the α7 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor on motor coordination in mice treated with methyllycaconitine and anabasine. J. Appl. Toxicol. 2013; 33 (9): 1017–1026.
12. *Song D.J., Huang X.Y., Ren L.C., Yang X.H., Xiao M.Z., Wang S.* Effect of lentiviral vector encoding on triggering receptor expressed on myeloid cells 1 on expression of inflammatory cytokine in septic mice infected by Bacteroides fragilis. Zhonghua Shao Shang Za Zhi. 2009; 25 (1): 36–41.
13. *Hauber H.P., Zabel P.* Pathophysiology and pathogens of sepsis. Internist. (Berl.). 2009; 50 (7): 779-80, 782–784, 786–787.
14. *Hoeger S., Fontana J., Jarczyk J., Selhorst J., Waldherr R., Krämer B.K., et al.* Vagal stimulation in brain dead donor rats decreases chronic allograft nephropathy in recipients. Nephrol . Dial. Transplant. 2014; 29(3): 544–549.

REFERENCES:

1. *Zabrodskii P.F.* Effect of armin on nonspecific resistance factors of the body and on the primary humoral immune response. Farmakologija i toksikologija. 1987; 49(2); 57–60 (in Russian).
2. *Zabrodskii P.F.* Change in the non-specific anti-infection resistance of the body exposed to cholinergic stimulation. Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny. 1995; 119 (8): 164–167 (in Russian).
3. *Zabrodskii P.F.* Mechanism to reduce mortality in the early phase of sepsis in acute organophosphate poisoning. Toksikologicheskij vestnik. 2011; 1: 2–5 (in Russian).
4. *Zabrodskii P.F. , Lim V.G., Shekhter M.S., Kuzmin A.V.* Role of nicotinic and muscarinic cholinoreceptors in the realization of the cholinergic anti-inflammatory pathway during the early phase of sepsis. Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny). 2012; 153 (5): 656–659 (in Russian).
5. *Oke S.L., Tracey K.J.* From CNI-1493 to the immunological homunculus: physiology of the inflammatory reflex. J. Leukoc. Biol. 2008; 83(3): 512–517.
6. *Tracey K.J.* Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. J. Clin. Invest. 2007; 117 (2): 289–296.
7. *Borovikova L.V., Ivanova S., Zhang M., Yang H., Botchkina G.I., Watkins L.R. et al.* Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. Nature. 2000; 405 (6785): 458–462.
8. *Pavlov V.A.* Cholinergic modulation of inflammation. Int. J. Clin. Med. 2008; 1 (3): 203–212.
9. *Newham P., Ross D., Ceuppens P., Das S., Yates J.W., Betts C. et al.* Determination of the safety and efficacy of therapeutic neutralization of tumor necrosis factor-α (TNF-α) using AZD9773, an anti-TNF-α immune Fab, in murine CLP sepsis. Inflamm. Res. 2014; 63(2): 149–160.
10. *Pohanka M.* Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor is a target in pharmacology and toxicology. Int. J. Mol. Sci. 2012; 13 (2): 2219–2238.
11. *Welch K.D., Pfister J.A., Gardner D.R., Green B.T., Panter K.E.* The role of the α7 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor on motor coordination in mice treated with methyllycaconitine and anabasine. J. Appl. Toxicol. 2013; 33 (9): 1017–1026.
12. *Song D.J., Huang X.Y., Ren L.C., Yang X.H., Xiao M.Z., Wang S.* Effect of lentiviral vector encoding on triggering receptor expressed on myeloid cells 1 on expression of inflammatory cytokine in septic mice infected by Bacteroides fragilis. Zhonghua Shao Shang Za Zhi. 2009; 25 (1): 36–41.
13. *Hauber H.P., Zabel P.* Pathophysiology and pathogens of sepsis. Internist. (Berl.). 2009; 50 (7): 779-80, 782–784, 786–787.
14. *Hoeger S., Fontana J., Jarczyk J., Selhorst J., Waldherr R., Krämer B.K., et al.* Vagal stimulation in brain dead donor rats decreases chronic allograft nephropathy in recipients. Nephrol . Dial. Transplant. 2014; 29(3): 544–549.

P.F. Zabrodskii, M.S. Gromov, V.V. Maslyakov

ACTIVATION OF ALPHA 7 NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTOR AS A MORTALITY REDUCTION FACTOR IN THE EARLY PHASE OF SEPSIS AT ACUTE POISONING WITH ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS

Branch of Non-state Educational Institution of Higher Professional Education "Samara Medical Institute REAVIZ", Saratov, 410004, Russian Federation.

It was established in experiments in inbred mice that organophosphorus compound (dimethyl dichlorovinyl phosphate) administrated 2 hours prior to modeling sepsis (intraperitoneal injection of *E. coli*) significantly reduces the mortality of mice in the consequence of activation of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor (α7nAChR) by phagocytic-monocytic system of acetylcholine and decreases pro-inflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β and IL-6) in blood.

Key words: *alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor (α7nAChR), cholinergic anti-inflammatory pathway, organophosphorus compounds, pro-inflammatory cytokines, sepsis*

Материал поступил в редакцию 31.03.2014 г.

УДК 546.824-31 :615.916

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА И ЕГО МАКРОАНАЛОГА НА ПОСТНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА

Л.Ю. Бочарова, Л.П. Точилкина, Н.В. Ходыкина, Б.Н. Филатов

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, 400048, г. Волгоград

Проведена оценка биологической полноценности потомства, полученного от внутригруппового скрещивания самцов и самок нелинейных белых крыс, подвергавшихся идентичному воздействию нано- и микроразмерного диоксида титана. Обнаружено, что длительный контакт родительских особей с диоксидом титана не отражается на способности животных к спариванию и фертильности, однако приводит к негативным отклонениям в постнатальном онтогенезе их совместного потомства.

Ключевые слова: *диоксид титана, наночастицы, микрочастицы, репродуктивная токсичность.*

Введение. Если пару десятилетий назад нанотехнология только зарождалась как инновационное направление и совершала свои первые робкие шаги, открывая перед человечеством новый класс материалов и заманчивые перспективы, то сейчас, благодаря широкомасштабному внедрению ряда разработок, обеспечивших стремительный переход современной науки и производства на более высокий уровень развития, укрепила свои позиции настолько, что причислена к основополагающим технологиям будущего.

Это привело к тому, что ежегодно кроме количественного происходит качественное обогащение мирового рынка как первичной продукцией, так и изделиями, содержащими нанокомпоненты. Согласно итогам исследования, проведенного центром Вудро Вильсона в 2013 г., 1628 зарегистрированных товаров личного и бытового назначения содержат такие наночастицы, как Ag, TiO_2, ZnO, фуллерены [1]. Среди них продукция, имеющая в своем составе наноформы диоксида титана, благодаря уникальным физико-химическим характеристикам и пролонгированному антибактериальному эффекту, является самой востребованной и, несмотря на небольшой ассортимент, многократно превосходит все остальные по объему выпуска [2]. Такие крупные производители косметики, как Avon, Beiersdorf, L'Oreal, Unilever, Korres, открыто заявляют о включении ультрадисперсного порошка диоксида титана в линии средств по уходу за кожей и личной гигиены [3]. Вместе с тем, информация о параметрах и концентрации наночастиц в той или иной торговой марке остается коммерческой тайной компаний. Как следствие, под заявляемой в инструкции позицией «диоксид титана» скрывается массовая доля TiO_2, колеблющаяся в пределах от ничтожно малой до 10%-ной, из которой на частицы меньше 100 нм приходится в среднем около 36% [4]. Аналогична ситуация и с другими товарами народного потребления, в изготовлении которых используют наноразмерный диоксид титана, в частности сверхпрочными материалами и покрытиями, фильтрами для очистки воздуха и воды, продуктами фармацевтической и пищевой индустрии [5–8].

Между тем очевидно, что бесконтрольное включение новых видов искусственно синтезированных нанокомпозитов в состав конечной продукции без предварительного тщательного анализа их биологической активности и возможных отдаленных эффектов несет в себе потенциальную угрозу для здоровья населения планеты.

Нельзя проигнорировать тот факт, что в связи с промышленной экспансией нанопроизводных двуокиси титана во всем мире предпринимаются активные попытки охарактеризовать их токсичность и безопасность, что отражено в ряде обстоятельных зарубежных и отечественных обзоров

Бочарова Людмила Юрьевна (Bocharova Lyudmila Yur'evna), научный сотрудник лаборатории лекарственной безопасности ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, г. Волгоград, niigtp@rihtop.ru
Точилкина Людмила Петровна (Tochilkina Lyudmila Petrovna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией лекарственной безопасности, ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, г. Волгоград, tochilkina@rihtop.ru
Ходыкина Нина Владимировна (Khodykina Nina Vladimirovna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории лекарственной безопасности ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, г. Волгоград, niigtp@rihtop.ru
Филатов Борис Николаевич (Filatov Boris Nikolaevich), доктор медицинских наук, профессор, директор ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, г. Волгоград, filatov@rihtop.ru

последнего времени [9, 10]. Тем не менее, влияние нанодиоксида титана на функцию воспроизводства должной оценки до сих пор не получило, что и определило *цель настоящего исследования*.

Материалы и методы исследования. Объектом изучения являлся образец нанопорошка диоксида титана (ДТ) с размером частиц 40±3 нм (смесь рутила и анатаза), синтезированный методом сжигания тетрахлорида титана в воздушной плазме (фирма «ПЛАЗМОТЕРМ», г. Москва). Препаратом сравнения (макроаналогом) служил химически чистый реактив «Титан (IV) окись» (ТУ 6-09-05-1186-82) с размером частиц более 200 нм. В токсикологических экспериментах применяли дисперсии испытуемых образцов ДТ, которые готовили ex tempore по единой схеме – разведением необходимого количества нано-и микроразмерного порошка деионизированной водой с последующей сонификацией полученной взвеси в ультразвуковой ванне для предотвращения агрегации частиц.

В качестве биообъекта использовали нелинейных белых крыс обоего пола при их общей численности 75 особей (по 10 самцов и 15 самок в группе), в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (приказ Минздравсоцразвития от 23 августа 2010 г., №708н). Рабочие растворы нанодиоксида титана (наноTiO_2) или его макроаналога (макроTiO_2) вводили животным в дозе 100 мг/кг/день [11] внутрижелудочно при помощи зонда из расчета 1,0 мл на 100 г массы тела. Контрольные крысы ежедневно получали растворитель в эквивалентном объеме.

Продолжительность субхронического эксперимента составляла 2 месяца. В конце экспозиционного периода самок и самцов одной группы спаривали между собой и получали совместное потомство, за которым осуществляли наблюдение с момента рождения до достижения возраста половой зрелости.

Критериями репродуктивного благополучия служили фертильность родительских особей и жизнеспособность потомства. О последней судили по уровню постнатальной смертности, динамике прироста массы тела, скорости созревания основных морфологических признаков и сенсорно-двигательных рефлексов в лактационном периоде [12] и итогам комплексного тестирования в возрасте двух месяцев. Полноценность становления жизненно важных функций организма у половозрелых потомков анализировали с применением интегральных тестов: масса тела, СПП, ЧСС, мышечная сила, поведенческие реакции (в автоматизированной системе регистрации и идентификации поведенческих актов «LABORAS», «Metris», Нидерланды), морфологический состав крови.

Состояние метаболизма оценивали на основании анализа таких биохимических показателей сыворотки крови, как содержание общего белка, альбумина, глюкозы, триглицеридов, холестерина, мочевины, креатинина, молочной и пировиноградной кислот, а также активность АЛТ, АСТ, ЛДГ и ГГТ. О функциональных возможностях антиоксидантной системы судили по результатам количественного определения восстановленного глутатиона в цельной крови и конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) – в сыворотке. Исследования выполняли с применением биохимического анализатора или унифицированными спектрофотометрическими методами.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с применением критерия t-Стьюдента [13], используя пакет Primer of Biostatistics 4.03. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$ (в таблицах помечены символом «*»).

Результаты и обсуждение. Как показали проведенные исследования, длительное экспонирование крыс обоего пола диоксидом титана не оказывало негативного влияния на их способность к воспроизводству. Однако в процессе наблюдения за живорожденными потомками, полученными при внутригрупповом скрещивании, обнаружено, что постнатальный этап их онтогенеза протекал с некоторыми неблагоприятными отклонениями. Так, при сопоставимой по величине естественной убыли крысят прирост массы тела в обеих опытных группах происходил со стабильно достоверным отставанием от контроля (табл. 1).

У крысят этих же групп при их поголовном обследовании фиксировали и другие признаки торможения физического созревания, более многочисленные у потомков родителей, длительное время получавших наноразмерный диоксид титана (группа 2). При экспонировании родителей диоксидом титана в макроформе у крысят отмечали лишь запаздывание в сроках прорезывания нижних резцов: на 12-е сутки жизни признак был положителен у 70,9% представителей субпопуляции, в то время как в контроле данная величина составляла уже 87,3%. После воздействия наноTiO_2 у крысят, наряду с аналогичным отклонением (прорезывание резцов в 71,3% случаев), в более поздние сроки регистрировали снижение мышечной силы и замедление полового созревания. Последнее затрагивало потомков обоего пола (табл. 2). Так, опускание семенников к 25-му дню жизни происходило только у 18,4% самцов, открытие влагалища на 55-е сутки – у 36,8% самок при том, что в контроле те же показатели составляли соответственно 48,6% и 62,2%. В оба контролируемых срока (1 и 2 месяца) сила мышечной хватки крысят по сравнению с контролем была снижена почти на 9% (табл. 2).

Вместе с тем, при исследовании ряда сенсорно-двигательных рефлексов, становление которых приходится на период лактации, торможение их формирования, выявленное по двум тестам («отрицательный геотаксис» и «хоминг»), в опытных группах было выражено в равной степени (табл. 3).

В двухмесячном возрасте состояние опытных животных в сравнении с контролем было изменено также в обеих группах (табл. 4).

Предшествовавший спариванию контакт родителей с макроаналогом вызывал у половозрелых потомков слабовыраженное усиление ориентировочно-двигательной активности. На фоне снижения продолжительности недифференцированных поведенческих актов у животных этой группы регистрировали почти двукратное сокращение времени неподвижности и уменьшение на 38% числа самих актов неподвижности. При этом продолжительность «стоек» достоверно возрастала – до 185,32±5,02 сек. относительно 161,81±7,26 сек. в контроле (табл. 4). Кроме того, послед-

Таблица 1

Постнатальная смертность и динамика массы тела потомства крыс, подвергавшихся воздействию диоксида титана до спаривания

Исследуемые показатели и единицы измерения	Группы животных		
	Опыт 1, макроTiO_2	Опыт 2, наноTiO_2	контроль
Количество рожденных крысят	103	98	91
Средняя величина помета, крысят/самку	10,3±0,6	9,8±1,0	10,1±0,6
Гибель в постнатальном периоде, %			
4-е сутки	6,8	10,2	13,2
7-е сутки	6,8	13,3	13,2
14-е сутки	9,7	21,4	15,4
21-е сутки	10,7	21,4	15,4
1 месяц	11,7	22,4	16,5
2 месяца	12,6	22,4	17,6
Прирост массы тела, г			
14-е сутки	**20,3±0,4***	**18,5±0,5***	22,5±0,3
21-е сутки	**28,9±0,6***	**26,5±0,9***	31,4±0,6
1 месяц	**48,5±1,1***	**44,4±1,2***	53,0±1,0
2 месяца	124,5±2,6	**115,1±3,1***	126,5±2,6

Таблица 2

Показатели физического развития потомства крыс, подвергавшихся длительному воздействию диоксида титана

Исследуемые показатели	Возраст крысят, сутки	Количество особей с наличием признака, %		
		Опыт 1, макроTiO_2	Опыт 2, наноTiO_2	контроль
Отлипание ушной раковины	5	100,0	100,0	100,0
Прорезывание нижних резцов	12 13	**70,9*** 93,9	**71,3*** 97,4	87,3 97,4
Открытие глаз	15 21	10,6 100,0	2,6 100,0	5,2 100,0
Опускание семенников	25 30	45,0 75,0	**18,4*** 65,8	48,6 69,4
Открытие влагалища	50 55	44,0 66,0	34,2 **36,8***	45,9 62,2
Мышечная сила, г	30 60	244,6±6,7 620,8±13,7	**230,3±5,8*** **580,8±16,9***	251,8±5,4 635,8±14,8

Примечание. Для показателя «мышечная сила» единицей измерения являются граммы.

Таблица 3

Скорость созревания некоторых сенсорно-двигательных рефлексов в лактационном периоде

Исследуемые показатели	Возраст крысят, сутки	Количество особей с наличием признака, %		
		Опыт 1, макроTiO_2	Опыт 2, наноTiO_2	контроль
Переворачивание на плоскости	5 7	97,7 99,0	90,7 96,5	92,3 100,0
Отрицательный геотаксис	5 7	**27,3*** **67,7***	**18,5*** **49,4***	58,5 84,8
Хоминг	11 12 14	**37,5*** **83,3*** 95,8	**43,3*** **65,3*** **88,3***	93,8 96,2 100,0
Переворачивание в свободном падении	19	100,0	97,4	100,0

ствия воздействия на родительские особи макроформы TiO_2 проявлялись у потомства незначительной гипогликемией и активацией АЛТ в сыворотке крови – до 117% от среднего значения показателя, определенного у животных параллельного контроля (табл. 4). Обнаруженную гипогликемию (~ 5%) не расценивали как патогенетически значимую. Однако факт повышения АЛТ не мог не настораживать, поскольку родительские особи (самцы) к моменту спаривания имели столь же выраженные метаболические нарушения функции печени аналогичной направленности [14].

Влияние родительского контакта с нанодиоксидом титана на поведение потомков слабо напоминало наблюдавшееся для макроаналога. Как и в первой группе, во второй было достоверно и практически в той же степени (на 45%) снижено время неподвижности. Вместе с тем, только у потомков второй группы обнаруживали гематологические сдвиги, выражавшиеся в виде лейкопении, когда количество лейкоцитов снижалось до 83% от контрольного уровня, и тромбоцитоза, сопровождавшегося подъемом количества кровяных пластинок на 15%. Достоверное снижение содержания восстановленного глутатиона в крови (1,006±0,025 мкмоль/л при 1,113±0,030 мкмоль/л в контрольной группе) было единственным, но вызывавшим обоснованные опасения биохимическим сдвигом, поскольку его направленность могла отражать снижение функциональных возможностей системы антиперекисной защиты организма (табл. 4).

Проведенные исследования показали, что у животных, в течение двух месяцев подвергавшихся пероральному воздействию ДТ в дозе 100 мг/кг, фертильность не нарушалась, однако, постнатальный онтогенез произведенного ими совместного потомства в сравнении с контролем был изменен.

При сопоставлении комплекса отклонений, зарегистрированных у потомков первой (макроаналог) и второй (нанодиоксид титана) опытных групп, прослеживались как черты сходства, так и отличия. К первым относились, в частности, торможение прироста массы тела, угнетение скорости формирования некоторых морфологических признаков и отдельных сенсорно-двигательных рефлексов лактационного периода и слабые признаки гипердинамии в возрасте двух месяцев. Вторые были присущи ДТ только в наноформе. Только нанодиоксид титана вызывал у потомков долговременное снижение силы мышечной хватки и торможение формирования репродуктивной системы у самцов и самок, и только у животных этой группы возникали гематологические отклонения. Разнился и характер биохимических сдвигов у практически взрослых особей, хотя в обоих случаях метаболические отклонения свидетельствовали о негативной модификации биохимического статуса гепатоцитов.

Выводы. 1 Двухмесячное пероральное поступление микро- и наноразмерного (40±3 нм, смесь рутила и анатаза) диоксида титана в организм лабораторных крыс обоего пола в дозе 100 мг/кг не отражается на способности животных к спариванию и плодовитости, однако, приводит к негативным отклонениям в постнатальном развитии полученного при их скрещивании совместного потомства.

2. В наносостоянии диоксид титана приобретает способность индуцировать у потомства дополнительные нарушения постнатального онтогенеза, не свойственные макроаналогу при равной дозовой нагрузке на организм родительских особей.

Таблица 4

Результаты обследования двухмесячного потомства (обоего пола) самок и самцов крыс, подвергавшихся пероральному воздействию диоксида титана в субхроническом эксперименте (средние из 24–40 определений)

Исследуемые показатели и единицы измерения	Группы животных		
	Опыт 1, макроTiO_2	Опыт 2, наноTiO_2	контроль
Интегральные физиологические показатели			
СПП, В	2,18±0,06	2,12±0,05	2,30±0,06
ЧСС в минуту	513,0±7,8	492,0±6,8	501,0±7,5
Поведенческие реакции за 5-минутный период наблюдения			
Продолжительность недифференцированных поведенческих актов, сек	**52,40±2,72***	69,77±5,75	71,05±4,32
Длительность передвижений, сек.	30,58±1,28	25,87±1,67	30,51±2,01
Время неподвижности, сек.	**6,13±1,14***	**6,63±1,38***	12,10±2,35
Продолжительность подъемов на задние лапы («стоек»), сек.	**185,32±5,02***	161,62±7,14	161,81±7,26
Продолжительность груминга, сек.	24,70±3,53	27,89±3,50	21,54±4,02
Количество недифференцированных поведенческих актов	23,3±1,2	25,0±1,6	26,9±1,5
Частота перемещений	26,3±1,2	22,8±1,5	25,7±1,5
Частота актов неподвижности	**5,3±0,7***	7,1±1,4	8,6±1,2
Частота подъемов на задние лапы (количество «стоек»)	34,2±1,1	32,5±1,7	33,1±1,4
Частота актов груминга	4,3±0,5	4,5±0,5	4,2±0,5
Суммарная частота поведенческих актов	94,3±2,3	90,8±3,2	98,4±3,4
Максимальная скорость перемещений, мм/сек.	186,20±3,93	176,88±4,28	182,85±4,02
Время перемещений с максимальной скоростью, сек	49,69±8,63	63,65±11,85	79,00±13,64
Средняя скорость перемещения, мм/сек.	79,35±0,76	77,85±0,77	79,12±0,69
Средняя скорость за период наблюдения, мм/сек.	9,92±0,44	8,20±0,53	9,16±0,58
Пройденная дистанция, м	2,974±0,135	2,459±0,160	2,747±0,173
Количество круговых вращений по часовой стрелке	10,6±0,6	8,3±0,6	9,1±0,7
Количество круговых вращений против часовой стрелки	11,16±0,6	10,1±0,8	10,1±0,7
Средняя продолжительность круговых вращений, сек.	6,912±0,156	7,348±0,199	7,313±0,179
Средний периметр окружности круговых вращений, мм	268,6±5,2	267,0±7,1	286,8±8,7

Исследуемые показатели и единицы измерения	Группы животных		
	Опыт 1, макроTiO_2	Опыт 2, наноTiO_2	контроль
Средняя скорость круговых вращений, мм/сек	40,78±1,11	38,32±0,95	40,61±0,90
Содержание в периферической крови			
Лейкоциты, 10^9/л	14,84±0,87	**10,83±0,68***	13,06±0,65
Эритроциты, 10^{12}/л	6,14±0,13	6,22±0,10	6,14±0,11
Гемоглобин,, г/л	125,1±2,4	125,7±1,8	123,2±2,1
Тромбоциты, 10^9/л	580,5±24,2	**606,0±24,3***	526,8±15,7
Биохимические показатели			
АСТ, мкмоль/с·л	221,8±17,4	175,2±10,5	194,5±16,1
АЛТ, мкмоль/с·л	**111,6±5,5***	103,8±6,5	95,0±3,1
ГГТ, Е/л	6,410±0,499	4,922±0,481	5,421±0,342
Мочевина, ммоль/л	4,629±0,122	4,016±0,162	4,260±0,164
ПВК, мкмоль/л	41,58±1,35	39,43±1,50	41,46±1,48
Глюкоза, ммоль/л	**9,006±0,137***	9,263±0,113	9,509±0,164
Общий белок, г/л	89,28±1,01	87,45±0,86	88,24±1,44
Альбумин, г/л	56,11±0,69	56,12±0,36	55,79±0,60
Триглицериды, ммоль/л	0,562±0,043	0,607±0,047	0,549±0,049
Холестерин, ммоль/л	1,828±0,039	1,964±0,077	1,895±0,062
Молочная кислота, ммоль/л	3,766±0,222	3,580±0,102	3,672±0,160
Молочная кислота/ПВК	90,22±2,67	91,93±2,57	88,56±2,17
ЛДГ, Е/л	1008,0±148,9	920,1±113,4	1007,0±144,8
Креатинин, мкмоль/л	32,47±1,94	31,50±1,40	30,19±1,05
Восстановленный глутатион, мкмоль/л	1,130±0,033	**1,006±0,025***	1,113±0,030
МДА, мкмоль/л	10,10±0,32	10,06±0,22	10,06±0,21

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lovell A.* Inventory finds increase in consumer products containing nanoscale materials. Re-launched inventory seeks input to address scientific uncertainty. 28 Oct. 2013. Avaible at: http://www.wilsoncenter. org/article/inventory-finds-increase-consumer-products-containing-nanoscale-materials.

2. *Ahmad R., Sardar M.* TiO_2 nanoparticles as an antibacterial agent against E. coli. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology. 2013; 2 (8): 3569–3574.

3. Small wonder? Nanotechnology and cosmetics. Report of UK consumer organization Which? Nov. 2008. Avaible at: http://www.which.co.uk/documents/pdf/nanotechnology-and-cosmetics-161175.pdf.

4. *Weir A., Westerhoff P., Fabricius L., Hristovski K., Goetz N.* Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. Environ. Sci. Technol. 2012; 46 (4): 2242–50.

5. *Абдуллин И.Ш., Канарская З.А., Хубатхузин А.А., Калашников Д.И., Гатина Э.Б.* Нанодисперсные материалы на основе оксида титана в микробиологической, медицинской и пищевой промышленностях. Вестник казанского технического университета. 2012; 10: 158–165.

6. *Mital G. S., Manoj T.* A review of TiO2 nanoparticles. Chinese Sci. Bull. 2011; 56 (16): 1639–1657.

7. *Shi H., Magaye R., Castranova V., Zhao J.* Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. Particle and Fibre Toxicology. 2013; 10: 15.

8. *Nohynek G. J., Lademann J., Ribaud C., Roberts M. S.* Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. Critical Reviews in Toxicology. 2007; 37: 251–277.

9. *Проданчук Н.Г., Балан Г.М.* Наночастицы диоксида титана и их потенциальный риск для здоровья и окружающей среды. Современные проблемы токсикологии. 2011; 4: 11–27.

10. *Iavicoli I., Leso V., Bergamaschi A.* Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: a review of in vivo studies. Journal of Nanomaterials. 2012. Avaible at: http://www.hindawi.com/journals/jnm/2012/964381/.

11. *Распопов Р.В., Верников В.М., Шумакова А.А., Сенцова Т.Б., Трушина Э.Н.* Мустафина О. К. *и др.* Токсиколого-гигиеническая характеристика наночастиц диоксида титана, вводимых в виде дисперсии в желудочно-кишечный тракт крыс. Сообщение 1. Интегральные, биохимические и гематологические показатели, степень всасывания макромолекул в тонкой кишке, повреждение ДНК. Вопросы питания. 2010; 79 (4): 21–30.

12. *Хабриев Р.У.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина; 2005.

13. *Глотов Н.В.,* ред. Биометрия: Учебное пособие. Л.: ЛГУ; 1982.

14. *Бочарова Л. Ю., Срослов М. С., Точилкина Л. П., Ходыкина Н. В., Филатов Б. Н.* Сравнительная оценка токсичности наночастиц диоксида титана и его макроаналога в субхроническом эксперименте // Токсикологический вестник. 2014; 1: 18–26.

REFERENCES:

1. *Lovell A.* Inventory finds increase in consumer products containing nanoscale materials. Re-launched inventory seeks input to address scientific uncertainty. 28 Oct. 2013. Avaible at: http://www.wilsoncenter.org/article/inventory-finds-increase-consumer-products-containing-nanoscale-materials (accessed 12 March 2014).

2. *Ahmad R., Sardar M.* TiO_2 nanoparticles as an antibacterial agent against *E. coli.* International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology. 2013; 2 (8): 3569-74.

3. Small wonder? Nanotechnology and cosmetics. Report of *UK consumer organization Which?* Nov. 2008. Avaible at: http://www.which.co.uk/documents/pdf/nanotechnology-and-cosmetics-161175.pdf (accessed 12 March 2014).

4. *Weir A., Westerhoff P.,Fabricius L., Hristovski K., Goetz N.* Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. Environ. Sci. Technol. 2012; 46 (4): 2242–2250.

5. *Abdullin I. Sh., Kanarskaya Z. A., Khubatkhuzin A. A., Kalashnikov D. I., Gatina E. B.* Nanoparticulate materials based on titanium oxide in the microbiology, medical and food industries. Vestnik kazanskogo tekhnicheskogo universiteta. 2012; 10: 158–165 (in Russian).

6. *Mital G. S., Manoj T. A.* review of TiO_2 nanoparticles. Chinese Sci. Bull. 2011; 56 (16): 1639–157.

7. *Shi H., Magaye R., Castranova V., Zhao J.* Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. Particle and Fibre Toxicology 2013; 10: 15.

8. *Nohynek G. J., Lademann J., Ribaud C., Roberts M. S.* Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. Critical Reviews in Toxicology. 2007; 37: 251–277.

9. *Prodanchuk N.G., Balan G.M.* Titanium dioxide nanoparticles and their potential risk to health and the environment. Sovremennye problemy toksikologii. 2011; 4: 11–27 (in Russian).

10. *Iavicoli I., Leso V., Bergamaschi A.* Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: a review of in vivo studies. Journal of Nanomaterials. 2012. Avaible at: http://www.hindawi.com/journals/jnm/2012/964381/ (accessed 12 March 2014).

11. *Raspopov R.V., Vernikov V.M., Shumakova A.A., Sentsova T.B., Trushina E.N. Mustafina, O. K.* et al. Toxicological-hygienic characteristics of nanoparticles of titanium dioxide introduced as a dispersion in the gastrointestinal tract of rats. Message 1. Integral, biochemical and hematological parameters, the extent of absorption of macromolecules in the small intestine, DNA damage. Voprosy pitaniya. 2010; 79 (4): 21–30 (in Russian).

12. *Khabriev R.U.* Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological agents. 2nd ed., rev. and add. M.: Meditsina; 2005 (in Russian).

13. *Glotov N.V.,* ed. Biometriya: Textbook: L.: LGU; 1982 (in Russian).

14. *Bocharova L. Yu., Sroslov M. S., Tochilkina L. P., Khodykina N. V., Filatov B. N.* Comparative evaluation of toxicity of nanosized titanium dioxide and its macroanalogue in sub-chronic experiment. Toksikologicheskiy vestnik. 2014; 1: 18–26 (in Russian).

L.Yu. Bocharova, L.P. Tochilkina, N.V. Khodykina, B.N. Filatov

EFFECT OF NANOSIZED AND BULK FORMS OF TITANIUM DIOXIDE TO POSTNATAL DEVELOPMENT

Federal State Unitary Enterprise «Research Institute of Hygiene, Toxicology and Professional Pathology» at FMBA of Russia, 400048, Volgograd, Russian Federation

The offspring's biological full-value has been evaluated after intragroup crossing of inbred albino male and female rats identically exposed to nanosized and microsized titanium dioxide. It was found out that a prolonged contact of parent animals with titanium dioxide does not impact on mating ability and fertility of animals, but leads to negative abnormalities in postnatal development of their joint offspring.

Key words: *titanium dioxide, nanoparticles, microparticles, reproductive toxicity.*

Материал поступил в редакцию 07.04.2014 г.

УДК 615.03

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТОВ НАКОЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА МЕДИЦИНСКИХ ПИЯВОК В РАМКАХ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ

Г.И. Никонов[1], Н.М. Митрохин[2], А.О. Лебедева[1]

[1]ЗАО «Международный центр медицинской пиявки», 140140, Россия, Московская обл., Удельная, ул. Октябрьская, 40
[2]ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ», 142450, Россия, Московская обл., Старая Купавна, ул. Кирова, 23

Проведено исследование общетоксического действия препаратов для накожного применения на основе экстракта пиявок Hirudo medicinalis, включая острую и субхроническую токсичность на белых нелинейных крысах и мышах. В результате исследования доказана безопасность применения препаратов на основе экстракта Hirudo medicinalis.

Ключевые слова: *пиявка медицинская, Hirudo medicinalis, гель, мазь, накожное нанесение, мыши, крысы, острая токсичность, подострая токсичность, общетоксическое действие.*

Введение. Более чем 30-вековая история гирудотерапии свидетельствует о высокой эффективности медицинских пиявок при лечении ряда заболеваний. Терапевтическая ценность пиявок обусловлена секретом слюнных желез, который представляет собой комплекс уникальных соединений, обеспечивающих противотромботическое, тромболитическое, гипотензивное, регенерирующее, антиатерогенное, антигипоксическое, иммуностимулирующее, анальгезирующее действие [1, 2].

Учитывая особенности постановки пиявок и возникающих постановочных реакций, все больше внимания уделяется созданию лекарственных препаратов на основе активных соединений, входящих в состав слюны Hirudo medicinalis [1]. Первым шагом в исследованиях этой направленности являются внедренные в практику лекарственные формы на основе экстракта цельных медицинских пиявок (препараты «первого поколения»). Входящий в их состав полный набор биологически активных веществ, продуцируемых медицинскими пиявками, определяет комплексное действие на организм в целом: профилактика и лечение тромбозов, атеросклероза, гипертензии, воспалительных процессов, сердечно-сосудистых и кожных заболеваний и т.д. Наглядным примером может служить препарат для перорального применения Пиявит [1–3].

Терапевтическая ценность экстракта пиявок сохраняется и при накожных аппликациях. Биологически активные соединения, продуцируемые пиявками, при курсовом нанесении на кожу улучшают синтез белка, пролиферацию клеток, трофику тканей, проявляют противовоспалительное действие, что учитывается при создании косметической продукции на основе экстрактов. Терапевтическая активность препаратов проявляется и при включении их в программы комплексного лечения пациентов с сердечно-сосудистыми и воспалительными заболеваниями [1, 2].

В ЗАО «Международный центр медицинской пиявки» была проведена работа по созданию лекарственных форм на основе экстракта медицинской пиявки в виде препаратов накожного применения (мазь, гель). Экспериментальные исследования показали, что эти потенциальные лекарственные средства при накожных курсовых аппликациях оказывают противоожоговое, противовоспалительное, антипролиферативное и антиэксудативное, ранозаживляющее действие [4].

Учитывая поликомпонентность и «животное» происхождение лекарственной субстанции (экстракт пиявок медицинских), представляется важным провести исследование в соответствии с действующими в настоящее время Методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных препаратов [5].

Целью настоящего исследования явилось изучение

Никонов Геннадий Иванович (Nikonov Gennadiy Ivanovich), доктор биологических наук, генеральный директор ЗАО «Международный центр медицинской пиявки», leech@org.ru
Митрохин Николай Михайлович (Mitrohin Nikolay Mihailovich), доктор биологических наук, профессор, генеральный директор ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ», mitrokhin07@mail.ru
Лебедева Алена Олеговна (Lebedeva Alena Olegovna), руководитель медикофармакологических исследований ЗАО «Международный центр медицинской пиявки», romanenkoao@mail.ru

острой и хронической токсичности потенциальных препаратов «Гирулюкс, гель для наружного применения» и «Гирулюкс, мазь для наружного применения» на основе экстракта медицинских пиявок производства ЗАО «Международный центр медицинской пиявки».

Материалы и методы исследования. Лекарственная субстанция гирулюкс получена из цельных стандартизированных по возрасту, весу и срокам голодания пиявок *Hirudo medicinalis*, выращенных на биофабрике ЗАО «Международного центра медицинской пиявки» в искусственно созданных условиях. Опытные образцы геля и мази «Гирулюкс» также были изготовлены в ЗАО «Международный центр медицинской пиявки».

Препарат «Гирулюкс 1% гель, для наружного применения» содержит (на 100 г геля): экстракт пиявки медицинской (Гирулюкс), метилпарагидроксибензоат (нипагин), пропиленгликоль, триэтаноламин, карбомер интерполимер типа А, вода очищенная. Гель от светло-серого до коричневого цвета со специфическим запахом.

Препарата «Гирулюкс 1% мазь, для наружного применения» содержит (на 100 г мази): экстракт пиявки медицинской (Гирулюкс), масло вазелиновое, пропиленгликоль, полисорбат-80, карбопол Ultrez 10 NF, метилпарабен, пропилпарабен, триэтаноламин, вода очищенная. Мазь от светло-серого до темно-коричневого цвета со специфическим запахом.

Контрольной группе наносили физиологический раствор.

Проведено доклиническое исследование (острая и хроническая токсичность) представленных для исследования образцов согласно действующим Методическим рекомендациям. Применены современные физиологические, гематологические, биохимические и патоморфологические методы исследования.

Схема построения эксперимента отражена в таблице 1.

Работа проведена на 80 белых нелинейных крысах-самцах весом 187–228 г (средний вес 204,9 г) и 60 белых нелинейных мышах-самцах весом 18–20 г, в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (приказ Минздравсоцразвития от 23 августа 2010 г., №708н).

Острая токсичность. В исследовании острую токсичность оценивали на мышах при аппликации изучаемых препаратов на выстриженный участок кожи мышей размером 1×2 см^2 за несколько раз до получения суммарной дозы 4000 мг препарата/кг [5]. Большую дозу нанести не удалось вследствие того, что уже к 5-й аппликации препарат слабо всасывался через кожу. Наблюдение за животными проводили в течение 2 недель после нанесения. О токсичности препарата судили по гибели животных и общей картине интоксикации.

Подострая токсичность. Исследование субхронической токсичности лекарственной формы экстракта медицинской пиявки проводили в соответствии с методическими рекомендациями, изложенными в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [1, 5].

С учетом того, что в проекте Инструкции по применению исследуемых образцов указано, что препарат «наносится тонким слоем на кожу над участком поражения, затем втирается до впитывания в течение 2–3 мин», для расчета тестируемой дозы руководствовались следующим:

1. Препарат наносится на кожу над участком поражения человека массой 70 кг, имеющего при этом поверхность тела 18 000 см^2. Площадь нанесения при этом может составить около 36 см^2, а общая масса нанесенного образца может составить 250 мг.

2. Поверхность тела крысы массой 223–286 г (средний вес 250 г) составляет 357 см^2.

3. Соотношение между площадью поверхности тела крысы и человека составляет 1:90.

4. Площадь нанесения препарата на тело крысы составляет 357 : 90 = 4см^2.

5. Терапевтическая доза препарата для крыс с учетом межвидового пересчета доз составляет ≈20 мг/крысу или 80 мг геля/кг.

Животным ежедневно в течение 30 дней накожно наносили путем последовательных 3–4-кратных втираний на выстриженный участок кожи размером 2×2 см^2 препарат в суммарной дозах: 80 мг геля/кг или мази/кг (терапевтическая для человека с учетом межвидового коэффициента переноса доз), 400 мг/кг (в 5 раз превышающей терапевтическую) и 800 мг/кг (в 10 раз превышающей терапевтическую).

В опыте наблюдали за поведенческими реакциями, общим состоянием, потреблением пищи и воды, динамикой массы. До начала и после окончания введения препаратов животных взвешивали и помещали в обменные клетки на

Таблица 1

Схема хронического эксперимента на крысах

№ группы	Пол	Количество животных в группе (гель/мазь)	Испытуемая лекарственная форма	Доза мг/кг	Сроки снятия показателей
1	Самцы	10/10	«Гирулюкс» (гель или мазь)	80	Исходный уровень, через 10 дней и через 30 дней введения
2	Самцы	10/10	«Гирулюкс» (гель или мазь)	400	
3	Самцы	10/10	«Гирулюкс» (гель или мазь)	800	
4	Самцы	10/10	0,85% р-р NaCl	Контроль	

сутки при свободном доступе к воде для определения суточного диуреза и pH мочи [6].

Состояние сердечно-сосудистой системы оценивали с помощью электрокардиографии во втором отведении до начала эксперимента и при его завершении.

Для биохимических исследований кровь собирали из бедренной вены. В периферической крови определяли содержание гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов с помощью рутинных методов анализа, рассчитывали цветовой показатель. В сыворотке крови анализировали содержание глобулина, креатинина, общего билирубина. Содержание альбумина определяли по реакции с бромкрезолом зеленым, общего белка – биуретовым методом, гемоглобина – гемиглобинцианидным методом (ООО «Агат-Мед»), концентрацию общего холестерина – энзиматическим методом, активность аланиновой и аспарагиновой трансаминаз – унифицированным методом Райхмана-Френкеля (ООО «Альвенс Диагностикум», Санкт-Петербург), уровень глюкозы в сыворотке крови – глюкозооксидазным методом (ЗАО «Диакон») [1, 7].

Влияние на функциональное состояние нервной системы оценивали по показателям спонтанной двигательной активности. Эвтаназию животных производили через 24 часа после последней аппликации препарата. По завершении опыта внутренние органы животных всех групп взвешивали и подвергали патоморфологическому анализу [1, 5].

Полученные данные подвергали статистической обработке общепринятым методом с использованием критерия t (Стьюдента) [7]. Разница между результатами, полученными для 2 групп, считалась достоверной при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. *Изучение острой токсичности.* Одной из основных характеристик лекарственных средств является их острая токсичность, которая определяется по количеству летальных исходов экспериментальных животных, получавших исследуемые препараты в диапазоне доз, и равна концентрации препарата, при которой гибель животных составляет 50%.

В экспериментах по определению острой токсичности препараты наносили на выстриженный участок кожи на спине белых нелинейных мышей-самцов (n = 60) путем втирания до полного всасывания за несколько раз до достижения дозы 4000 мг/кг. Большую дозу достичь не удалось вследствие значительного затруднения поглощения препаратов и возникающих при этом потерь. Оценивали выживаемость животных в течение 14 суток после введения. Согласно результатам проведенного эксперимента исследуемые образцы мази и геля не вызывали летальных исходов вплоть до максимально возможной вводимой дозы 4000 мг/кг. При этом отсутствовали признаки токсического действия препарата.

Полученный результат согласуется с имеющимися в литературе данными о низкой токсичности экстракта медицинской пиявки в испытанных дозах. Подобные результаты были получены в НИИ пластической хирургии и косметологии МЗ РФ при анализе токсичности экстракта пиявок в составе препаратов косметического назначения [6]. При ежедневных в течение 30 дней аппликациях полиакриламидных гелей, содержащих экстракт пиявок в концентрациях от 0,001 до 1,0%, не было зафиксировано смертельных исходов среди экспериментальных белых мышей.

Таким образом, исследуемые препараты «Гирулюкс, гель для наружного применения» и «Гирулюкс, мазь для наружного применения» являются малотоксичными веществами (4-й класс опасности) в соответствии с ГОСТ 12.1007-76 ($DL_{50} > 4000$ мг/кг).

Изучение хронической токсичности. Субхроническую токсичность препаратов исследовали на белых нелинейных крысах-самцах (n = 80). В течение 30 дней экспериментальным животным апплицировали исследуемые препараты в дозах: 80 (терапевтическая), 400 (в 5 раз превышающая терапевтическую) и 800 мг/кг (в 10 раз превышающая терапевтическую).

Изменение массы тела и внутренних органов животных.

Общее состояние животных, внешний вид, подвижность опытных животных не отличались от контрольной группы. Наблюдалась опрятность шерсти, наличие характерного для животных группы контроля блеска. Масса тела подопытных и контрольных животных незначительно возросла за время эксперимента. Причем для животных, получавших опытные препараты во всех испытанных дозах, отсутствовали изменения скорости прироста массы тела в сравнении с группой контрольных животных. Относительная масса внутренних органов у крыс опытных групп соответствовала этому показателю у контрольных животных. Наблюдавшиеся колебания значений находились в пределах физиологической нормы. Суточное потребление сухого, влажного корма и воды подопытными животными при воздействии изучаемого препарата и контроля также не имели существенных различий.

Состояние периферической крови.

Гематологические исследования показали, что исследуемые лекарственные формы «Гирулюкс» при накожных аппликациях в течение 30 дней не приводят к достоверному изменению содержания форменных элементов в крови в сравнении с контрольной группой и с исходными данными. Показатели периферической крови крыс (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, цветовой показатель, тромбоциты) подопытных групп не отличались от контроля. Представленные в таблицах 2–4 данные для опытных групп сопоставимы с аналогичными данными, полученными в контрольной группе, и находятся в пределах нормальных значений для этого вида животных. Не наблюдали отличий в содержании глюкозы, холестерина, белков, билирубина и креатинина, активности ферментов АлТ, АсТ в плазме крови у подопытных животных (табл. 2–4).

Таблица 2

Состояние периферической крови крыс после 30 дней накожного нанесения геля или мази «Гирулюкс»

№ группы	Доза геля/мази, мг/кг	Эритроциты, 1012 л	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, 109 л	Тромбоциты, 109 л	Цветовой показатель
1	«Гирулюкс» 80 мг/кг	5,3±0,2/ 5,2±0,1	131±8/ 126±5	8,1±0,4/ 7,5±0,3	343±18/ 340±18	0,75±0,04/ 0,75±0,03
2	«Гирулюкс» 400 мг/кг	5,3±0,3/ 5,3±0,2	133±7/ 132±7	8,5±0,3/ 8,7±0,3	359±16/ 353±13	0,75±0,03/ 0,87±0,03
3	«Гирулюкс» 800 мг/кг	5,2±0,2/ 5,3±0,2	126±8/ 131±4	8,3±0,4/ 7,6±0,4	337±16/ 336±10	0,73±0,03/ 7,6±0,4
4	Контроль	5,2±0,1/ 5,3±0,2	127±6/ 133±5	8,1±0,3/ 7,7±0,3	351±13/ 350±15	0,73±0,02/ 0,77±0,03

Таблица 3

Влияние препаратов «Гирулюкс» на содержание общего белка, альбумина, глобулина и общего билирубина в крови крыс после накожного нанесения в течение 30 суток

№	Доза геля/мази мг/кг	АсАТ ЕД/л	АлАТ ЕД/л	Креатинин группы мкМ/л
1	«Гирулюкс» 80 мг/кг	73,8±1,7/71,4±1,6	31,3±0,9/ 31,8±0,7	54,2±1,3/ 51,5±1,1
2	«Гирулюкс» 400 мг/кг	72,5±3,5/ 72,2±3,2	31,8±0,5/ 30,7±0,7	51,2±3,6/ 48,1±3,3
3	«Гирулюкс» 800 мг/кг	74,8±3,2/ 71,1±2,6	32,9±1,7/ 31,8±1,6	53,0±3,0/ 49,6±2,4
4	Контроль	70,1±2,7/ 70,1±1,3	32,9±1,7/ 32,9±0,9	54,5±2,1/ 50,8±0,9

Таблица 4

Влияние препаратов «Гирулюкс» на активность АсАТ, АлАТ и содержание креатинина в крови после 30-суточных аппликаций геля

№№ групп	Доза геля/мази, мг/кг	Общий белок, г/л	Альбумин, г/л	Глобулин, г/л	Общ. билл., мкМ/л
1	«Гирулюкс»80 мг/кг	71,4±2,1/ 70,4±2,2	29,4±1,3/ 27,7±1,1	41,4±1,4/ 40,7±1,5	8,2±0,3/ 8,0±0,3
2	«Гирулюкс» 400 мг/кг	69,8±2,7/ 67,7±2,7	28,9±0,9/ 28,1±1,0	39,8±0,9/ 42,1±1,0	8,1±0,2/ 8,2±0,2
3	«Гирулюкс» 800 мг/кг	71,4±1,7/ 69,3±2,0	8,8±1,0/ 29,8±1,1	41,2±1,1/ 43,1±1,1	8,3±0,2/ 8,4±0,2
4	Контроль	70,7±2,4/ 69,9±2,5	30,0±1,0/ 28,2±1,0	41,7±1,3/ 41,4±1,2	8,3±0,2/ 7,9±0,2

Таблица 5

Влияние препаратов «Гирулюкс» на содержание глюкозы и холестерина в плазме крови крыс самцов при накожных аппликациях в течение 30 суток

№ группы	Доза геля/мази, мг/кг	Глюкоза в плазме крови мМ/л		Холестерин в плазме крови мМ/л	
		до введения	после 30 дней введения	до введения	после 30 дней введения
1	«Гирулюкс» 80 мг/кг	4,7±0,07/ 4,76±0,09	4,7±0,10/ 4,82±0,15	2,02±0,10/ 2,04±0,09	1,97±0,10/ 2,01±0,11
2	«Гирулюкс» 400 мг/кг	4,8±0,08/ 4,77±0,13	4,7±0,08/ 4,71±0,13	2,10±0,11/ 2,00±0,09	2,05±0,07/ 1,97±0,06
3	«Гирулюкс» 800 мг/кг	4,8±0,07/ 4,69±0,09	4,7±0,07/ 4,77±0,09	2,05±0,07/ 1,97±0,07	2,06±0,07/ 2,01±0,08
4	Контроль	4,7±0,06/ 4,57±0,16	4,8±0,05/ 4,72±0,17	2,02±0,07/ 1,99±0,07	1,97±0,08/ 2,04±0,09

*Поведенческие реакции***.** Поведенческие реакции подопытных животных статистически достоверно не отличались от контрольных.

Функциональное состояние внутренних органов. О функциональном состоянии печени и почек судили по биохимическим показателям крови крыс и суточному диурезу животных. Полученные результаты показывают, что уровни биохимических показателей в плазме крови у крыс после многократного накожного нанесения исследуемых препаратов не претерпевали достоверных изменений в сравнении с группой контрольных животных: не изменились активности аспартат-аминотрансферазы (АсАТ) и аланин-аминотрансферазы (АлАТ), уровень креатинина в плазме крови, уровень общего белка, белковых фракций и билирубина. Содержание общего холестерина и глюкозы не отличалось от контрольной группы животных (табл. 5).

Статистически достоверные различия по параметрам ЭКГ опытных групп с контрольной группой отсутствовали.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что препараты «Гирулюкс, гель для наружного применения» и «Гирулюкс, мазь для

наружного применения» в дозах, многократно превышающих терапевтические для человека, не обладают раздражающим и аллергизирующим действием на кожу экспериментальных животных, отрицательным воздействием на морфологические структуры кожи и печени, не оказывают общетоксического действия на организм подопытных животных. Смертельных исходов не было, общее состояние шерсти и кожи не отличалось от контроля, аппетит был сохранен, явлений общей интоксикации не наблюдалось. Не отмечено признаков раздражения, прирост веса опытных животных не отличался от контрольных.

Заключение. По действию на гематологические, биохимические и интегральные показатели, функциональное состояние систем и органов и морфологическую структуру внутренних органов экспериментальных животных экстракт цельных медицинских пиявок в составе «Гирулюкс, гель для наружного применения» и «Гирулюкс, мазь для наружного применения» (ЗАО «Международный центр медицинской пиявки», Россия) не обладают выраженными токсическими эффектами, местнораздражающим действием в дозах, многократно превышающих терапевтические для человека, и могут быть рекомендованы для клинических исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Никонов Г.И.* Гирудотерапия: история и современное состояние. В кн.: Гирудотерапия (Ред. Савинов В.А.), М.: Медицина, 2004. – С.14–15.

2. *Никонов Г.И., Романенко Е.Б., Титова Е.А.* Гель «Гирудо» на основе медицинской пиявки. Клиническое применение // Материалы XIV международной конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. Украина, Гурзуф, 2006. – С. 315–318.

3. *Лебедева А.О., Митрохин Н.М., Никонов Г.И.* Противоотечное и противовоспалительное действия лекарственной субстанции гирулюкс в экспериментах на животных. Разработка и регистрация лекарственных средств, 2014, 1 (6). – С. 58–60.

4. *Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А., Березовская И.В. и др.* Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Ред. Р.У. Хабриев, М., 2005. – С. 41–54.

5. Правила лабораторной практики в Российской Федерации // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Ред. Р.У. Хабриев. М., 2005. – С. 15–41.

6. *Трахтенберг И.М., Сова Р.Е. Шефтель В.О. и др.* Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы. М.: Медицина, 1978. – 176 с.

7. *Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P. et al.* Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey and man // Cancer Chemoter. Rep., 1966. – Vol. 50. – №4. – P. 219–244.

REFERENCES:

1. *Nikonov G.I.* Leech therapy: history and current status. In book: Hirudotherapy. (Red. Savinov V.A.), Moscow: Medicine, 2004. – P. 14–15 (in Russian).

2. *Nikonov G.I., Romanenko E.B., Titova E.A.* Gel «Girudo» on the basis of the medicinal leech. Clinical Applications // Proceedings of the XIV International Conference «New information technologies in medicine, biology, pharmacology and ecology». Ukraine, Gurzuf, 2006. – P. 315–318 (in Russian).

3. *Lebedeva A.O., Mitrokhin N.M., Nikonov G.I.* Anti-edema and anti-inflammatory action giruluks drug substance in animal experiments. Development and registration of medicines, 2014, 1 (b). – P. 58–60 (in Russian).

4. *Arzamastsev E.V., Gus'kova T.A., Berezovskaya I.V. et al.* Methodological guidance on the study of general toxic action of pharmacological substances // Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological agents. Red. R.U. Khabriev, M., 2005. – P. 41–54 (in Russian).

5. Terms of laboratory practice in the Russian Federation // Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological agents. Red. R.U. Khabriev, M., 2005. – P. 15–41 (in Russian).

6. *Trakhtenberg I.M., Sova R.E., Sheftel' V.O. et al.* Indicators standards in laboratory animals in toxicological experiment (modern concepts and methodological approaches, the main parameters and constants. Moscow, Medicine, 1978. – 176 p. (in Russian).

7. *Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P. et al.* Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey and man // Cancer Chemoter. Rep., 1966. – Vol. 50. – №4. – P. 219–244.

G.I. Nikonov[1], N.M. Mitrohin[2], A.O. Lebedeva[1]

PRECLINICAL TRIAL STUDY OF THE TOXICITY OF TRANSDERMAL DRUGS BASED ON MEDICINAL LEECH EXTRACT

[1] Close Joint-Stock Company «International Medical Leech Centre» , settlement Udelnaya, 140140, Moscow Region
[2] Open Joint-Stock Company «All-Russian Research Centre for Safety of Biologically Active Compounds», settlement Staraya Kupavna, 142450 Moscow Region

General toxicity, including acute and sub-chronic toxicity, of Hirudo medicinalis leeches extract- based drugs for transdermal application was studied, in white nonlinear rats and mice. The study proved the safety of drugs based on the Hirudo medicinalis leeches extract.

Key words: *medicinal leech, Hirudo medicinalis, gel, ointment, transdermal application, mouse, rat, acute toxicity, subacute toxicity, general toxic effect.*

Материал поступил в редакцию 28.03.2014 г.

УДК 546.282.3: 615.099

ОБОСНОВАНИЕ МАКСИМАЛЬНО НЕДЕЙСТВУЮЩЕЙ ДОЗЫ (NOAEL) ВОДНОЙ СУСПЕНЗИИ НАНОДИСПЕРСНОГО ДИОКСИДА КРЕМНИЯ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ПОДОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Н.В. Зайцева[1], М.А. Землянова[1], П.З Шур[1], Т.И. Акафьева[1,2]

[1]ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, г. Пермь
[2]ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», 614990, г. Пермь

В эксперименте на белых крысах линии Wistar изучены негативные эффекты и выявлены критические органы и системы воздействия нанодисперсного диоксида кремния при ежедневном внутрижелудочном введении через зонд в течение 90 дней, обоснована NOAEL. Установлено, что исследуемое соединение может вызывать иммунораздражающий, гематоксический, цитолитический и воспалительный эффекты. Критическими органами и системами для данного соединения в подостром эксперименте являются иммунная система, печень, желудочно-кишечный тракт. NOAEL составила 7,3 мг/кг.

Ключевые слова: *диоксид кремния, наночастицы, подострый эксперимент, критические органы и системы, NOAEL.*

Введение. Согласно прогнозным оценкам Исследовательской службы Конгресса США (Congressional Research Service) на сегодняшний день мировая промышленность использует нанотехнологии в процессе производства 80 групп потребительских товаров и свыше 600 видов сырьевых материалов, комплектующих изделий и промышленного оборудования. По оценкам специалистов рынок нанотехнологической продукции и услуг к 2015 г. будет составлять около 1,5 триллиона долларов [1].

В настоящее время происходит динамичное развитие глобального сектора нанопорошков. Наибольшую часть от всего объема промышленного производства нанопорошков приходится на диоксид кремния, который используется в приоритетных направлениях развития нанотехнологий: оптике, электронике, обрабатывающей промышленности [2]. Учитывая появление массово выпускаемого продукта, контактировать с которым предполагается широкой категории населения и работающих, актуальным становится выявление негативных эффектов воздействия нанодисперсного диоксида кремния на организм, а также обоснование недействующей дозы (NOAEL) данного соединения при различных путях поступления.

Целью данной работы являлось обоснование дозы водной суспензии нанодисперсного диоксида кремния при внутрижелудочном введении через зонд в условиях подострого эксперимента, при которой не наблюдаются негативные эффекты воздействия (NOAEL), а также выявление критических органов и систем.

Материалы и методы. Для проведения исследований использовали водную суспензию нанодисперсного диоксида кремния (рег. номер CAS 7631-86-9), синтезированную методом жидкокристаллического темплатирования, который относится к нанотехнологиям и позволяет получать материалы с уникальными текстурно-структурными характеристиками (высокая удельная поверхность, однородное распределение пор по размерам и их упорядоченность) [3, 4]. В качестве матрикса суспензии использовали би-дистиллированную воду. Установлены следующие параметры частиц в исследуемой суспензии: размер частиц наноразмерной фазы – 25 нм (67,2% от общего количества частиц) и 35 нм (32,8% от общего количества частиц); форма частиц – несферическая (67,2% от общего количества частиц), сферическая

Зайцева Нина Владимировна (Zaitseva Nina Vladimidrovna), доктор медицинских наук, академик РАН, директор ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, znv@fcrisk.ru
Землянова Марина Александровна (Zemlyanova Marina Aleksandrovna), доктор медицинских наук, заведующий отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, zem@fcrisk.ru;
Шур Павел Залманович (Shur Paul Zalmanovich), доктор медицинских наук, ученый секретарь ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, shur@fcrisk.ru;
Акафьева Татьяна Игоревна (Akafeva Tatiana Igorevna), магистрант биологического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета, специалист по нанотехнологиям лаборатории биохимической и наносенсорной диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, tania.akafeva@gmail.com.

(32,8% от общего количества частиц); удельная площадь поверхности частиц – 96,96 $м^2/г$ [5]. Концентрация кремния в водной суспензии, определяемая методом атомно-абсорбционной спектрометрии с ацетилено-воздушным пламенем на анализаторе Perkin Elmer 3110 (Perkin Elmer Inc. США), составила 65 $мг/см^3$. Непосредственно перед проведением экспериментальных исследований для предотвращения образования агрегатов и агломератов в жидкой фазе и равномерного распределения частиц SiO_2 в объеме проводили ультразвуковую обработку суспензии на ультразвуковом гомогенизаторе Sonopuls Hd 3200 «Bandelin» (Германия) при комнатной температуре в течение 2 минут в режиме непрерывной пульсации на 65% мощности.

Экспериментальные исследования выполнены на 50 белых крысах-самцах линии Wistar массой 190±20 г (по десять животных в группе), приобретенных в питомнике «Андреевка» ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН («Правила лабораторной практики» Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н). Животных содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе. Все животные до начала эксперимента находились в карантине не менее 14 суток. Работа с экспериментальными животными выполнена в соответствии с Руководством по уходу и использованию лабораторных животных (ILAR, DELS) [7].

Водную суспензию нанодисперсного диоксида кремния вводили внутрижелудочно через зонд в дозах: группа № 1 – 365,9 мг/кг (1/10 $ЛД_{50}$) в объеме 1,3±0,2 $см^3$; группа № 2 – 73,18 мг/кг (1/50 $ЛД_{50}$) в объеме 0,6±0,1 $см^3$; группа № 3 – 14,6 мг/кг (1/250 $ЛД_{50}$) в объеме 0,3±0,1 $см^3$; группа № 4 – 7,3 мг/кг (1/500 $ЛД_{50}$) в объеме 0,1±0,08 $см^3$. Экспериментальным животным группы № 5 (контроль) вводили внутрижелудочно через зонд би-дистиллированную воду в максимальном объеме – 1,5 $см^3$. Длительность эксперимента составила 90 дней.

У животных всех групп после снятия фоновых показателей проводили отбор крови из хвостовой вены с последующим определением уровня лабораторных показателей на 90-й день эксперимента. Анализ негативных эффектов при подостром воздействии исследуемого вещества осуществляли по гематологическим, биохимическим показателям, позволяющим оценить функциональное состояние органов и систем, развитие негативных эффектов:

• системы крови и кроветворных органов (концентрация гемоглобина, гематокрит, общее количество эритроцитов, средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците в цельной крови; содержание железа, трансферрина в сыворотке крови);

• иммунной системы (относительное число эозинофилов, эозинофильно-лимфоцитарный индекс крови);

• печени (содержание малонового диальдегида плазмы крови (МДА), гидроперекиси липидов (ГЛ); уровень антиоксидантного статуса (АОС); активность супероксиддисмутазы (СОД), аланинаминотрансферазы (АЛАТ), аспартатаминотрансферазы (АСАТ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГТП), щелочной фосфатазы сыворотки крови);

• воспалительной реакции организма (общее количество лейкоцитов в крови, лейкоцитарная формула цельной крови; протеинограмма сыворотки крови; уровень С-реактивного белка высокочувствительного).

Выбор показателей для оценки состояния организма животных в подостром эксперименте осуществляли с учетом данных, представленных в научной литературе, о механизме токсического действия наночастиц диоксида кремния.

Определение гематологических показателей выполнено в соответствии с протоколом использования автоматического гематологического анализатора Coulter Ac*T 5diff AL (Beckman Culter, США); биохимических показателей сыворотки крови – в соответствии с протоколом использования автоматического биохимического анализатора Konelab20 (Thermo Scientific, Finland), автоматического иммуноферментного микропланшетного анализатора Infinite-F50 (Tecan, Австралия).

Анализ информации проводили в пакете статистического анализа Statistica 6.0, сопряженного с приложениями MS-Office. Математическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью параметрических методов статистики, предварительно оценивали соответствие полученных результатов закону нормального распределения. Для оценки достоверности различий полученных данных использовался t-критерий Стьюдента (сравнение групп опыта и контроля по количественным признакам). Различия полученных результатов являлись статистически значимыми при $p \leq 0,05$ [8].

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 90-й день эксперимента щадящим методом эвтаназии при помощи углекислого газа. Для изучения морфологических изменений тканей внутренних органов у экспериментальных животных выполняли отбор висцеральных органов (легкие, сердце, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), печень, селезенка, почки) методом полной эвисцерации по Шору. Извлечение головного мозга, бедренной кости для гистологического анализа выполняли специализированным инструментом.

Морфологическое исследование включало фиксацию материала в 10%-ном забуференном нейтральном формалине, обезвоживание в спиртах восходящей концентрации, пропитывание фрагментов органов хлороформом и парафином, а затем заливку гомогенезированной средой «Histomix». Срезы толщиной 4 мкм изготавливали на санном микротоме JUNG SM 2000R (Leica, Германия) и окрашивали по общепринятой методике гематоксилином и эозином. Полученные препараты исследовали в светооптическом микроскопе Axiostar (Carl Zeiss, Германия).

Результаты и обсуждение. По результатам оценки изменений гематологических и биохимических показателей крови, морфологических изменений тканей внутренних органов установлены негативные эффекты, характеризующие токсическое действие водной суспензии исследуемого вещества.

У экспериментальных животных в группах № 1–3 установлен цитолитический эффект, реализующийся через активацию перекисного окисления липидов мембран клеток по увеличению уровня малонового диальдегида в плазме крови в 1,5–1,75 раза и гидроперекиси липидов в сыворотке крови в

3,2–3,6 раза относительно контрольных значений (p = 0,001–0,044). Изменение данных показателей носило дозозависимый характер (табл.).

На фоне активации перекисного окисления липидов в данных группах отмечалось снижение активности показателей антиоксидантной системы. Достоверное снижение активности СОД в сыворотке крови составило 1,5–2,2 раза относительно значений контрольной группы (p = 0,001–0,007). Установлены аналогичные изменения уровня показателя АОС в сыворотке крови: снижение составило 2,1–4,4 раза (p = 0,001–0,002). Значения показателей АОС в группе № 4 в течение всего эксперимента соответствовали контрольному уровню. Данные изменения показателей свидетельствуют о развитии оксидантно-антиоксидантного дисбаланса, что, в свою очередь, может вызвать структурные нарушения в липидном слое мембран за счет преимущественного окисления ненасыщенных жирных кислот. Следствием этого является нарушение ассоциации и активности мембраносвязанных ферментов, окисление SH-групп трансмембранных белков и образование комплексов окисленных липидов с белками, способствующие полимеризации белковых молекул [9]. Указанный спектр молекулярной патологии ведет к разрушению субклеточных и клеточных мембран гепатоцитов, что может приводить к повышению активности в сыворотке крови таких внутриклеточных ферментов, как АЛАТ, АСАТ, γ-ГТП, наблюдаемой у экспериментальных животных в группах № 1–3. Так, в группе № 1 установлено достоверное увеличение активности АЛАТ в 1,7 раза, АСАТ в 1,4 раза, γ-ГТП в 1,3 раза относительно значений данных показателей в контрольной группе (p = 0,001–0,02). В группе № 2 установлено увеличение активности АЛАТ и γ-ГТП в 1,2 раза (p = 0,038). В группе № 3 отмечалось только увеличение активности АЛАТ в 1,2 раза (p = 0,041).

Выявленный цитолитический эффект подтверждается изменением морфологической структуры ткани печени и сердца. Установлено, что у экспериментальных животных в группах № 1–3 гепатоциты находятся в состоянии очаговой гидропической дистрофии, цитоплазма части клеток (особенно субкапсулярно) оптически прозрачна. В группе № 1 установлены очаговые дистрофические изменения кардиомиоцитов, что также может быть причиной увеличения активности АСАТ в сыворотке крови экспериментальных животных данной группы. В группе, получавшей нанодисперсный диоксид кремния в дозе 7,3 мг/кг, не установлено увеличения активности внутриклеточных ферментов в сыворотке крови и морфологических изменений тканей печени и сердца.

Воспалительный эффект установлен у животных в группах № 1–3 по дозозависимому увеличению уровня С-реактивного белка в сыворотке крови в 1,8–1,4 раза относительно значения контрольной группы (p = 0,001–0,031). Гистологическое исследование тканей показало, что в группе, получавшей максимальную дозу 365,9 мг/кг, наблюдаются воспалительные изменения ткани сердца, желудочно-кишечного тракта и органов дыхания. Об этом свидетельствует расширение сосудов сердца, диапедез эритроцитов, что указывает на нарушение проницаемости сосудов вследствие воспалительного процесса. Неспецифический воспалительный процесс выявлен в подслизистом слое желудка, тощей и ободочной кишки. Морфологически данный процесс проявляется в виде отека, умеренной лимфоидной инфильтрации с примесью единичных эозинофилов, плазматических клеток и гистиоцитов. В легких установлен периваскулярный и перибронхиальный отёк. Наблюдается плотная лимфомакрофагальная инфильтрация стенок бронхов, скопления альвеолярных макрофагов в альвеолах. При введении нанодисперсного диоксида кремния в дозе 73,2 мг/кг наблюдаются аналогичные воспалительные изменения тканей в желудочно-кишечном тракте и органах дыхания. При введении исследуемого вещества в дозе 14,6 мг/кг установлены воспалительные изменения в желудочно-кишечном тракте, которые характеризуются отёком тощей и ободочной кишки, умеренной лимфо-макрофагальной инфильтрацией с примесью единичных плазматических клеток и эозинофилов в подслизистом слое желудка. В группе № 4, получавшей нанодисперсный диоксид кремния в дозе 7,3 мг/кг, воспалительных изменений в исследованных тканях и органах не установлено.

В группах № 1–3 выявлено достоверное увеличение эозинофильно-лимфоцитарного индекса в цельной крови экспериментальных животных в 1,3–1,7 раза относительно фоновых значений и значений контрольной группы, что указывает на иммунораздражающий эффект воздействия исследуемого вещества (p = 0,004–0,043). Данный негативный эффект подтверждается наличием скоплений лимфоцитов, макрофагов, лейкоцитов и плазматических клеток в пульпарных тяжах селезенки экспериментальных животных. В группе № 4 иммунораздражающий эффект не установлен.

Наличие гематоксического эффекта установлено по снижению уровня гемоглобина в крови экспериментальных животных в группах № 1 и 2 в 1,2–1,3 раза относительно значений аналогичного показателя в контрольной группе (p = 0,006–0,007). Морфологически данный эффект подтверждается наличием в селезенке фибронизированных трабекул инфильтрированных макрофагами, в цитоплазме которых находится гемосидерин, что может указывать на усиленный распад эритроцитов. В группах № 3 и 4 наличие гематоксичекого эффекта не обнаружено. Обобщение результатов исследования представлено в таблице.

Заключение. В результате проведенного экспериментального исследования водной суспензии нанодисперсного диоксида кремния при внутрижелудочном введении через зонд в течение 90 дней в максимальной дозе 365,9 мг/кг установлены негативные изменения со стороны иммунной системы (иммунораздражающий эффект), селезенки (гематоксический эффект), печени и сердца (цитолитический эффект). Воспалительные изменения отмечаются в ЖКТ (желудке, тощей и ободочной кишки), органах дыхания, сердце.

В дозе 73,2 мг/кг наблюдается меньший спектр негативных эффектов и поражаемых органов и систем. Установлено воздействие водной суспензии нанодисперсного диоксида кремния на иммунную систему, печень, селезенку; воспалительные изменения отмечаются только в ЖКТ, органах дыхания.

В исследуемом диапазоне доз наименьшее количество не-

Таблица

Биохимические и гематологические показатели крови, повреждаемые органы и системы у крыс самцов линии Wistar при внутрижелудочном введении через зонд нанодисперсного диоксида кремния в течение 90 дней

Эффект	Показатель	Дозы водной суспензии нанодисперсного диоксида кремния				
		365,9 мг/кг	73,2 мг/кг	14,6 мг/кг	7,3 мг/кг	Контрольная группа
		Среднее значение (M±m) показателей на 90-й день эксперимента				
Цитолитический	МДА, мкмоль/см3	4,1±0,2*	3,5±0,4*	3,4±0,4*	2,2±0,4	2,3±0,2
	ГЛ, моль/дм3	110,5±4,5*	99,3±14,1*	59,7±16,6*	30,4±4,5	30,9±3,0
	СОД, нг/см3	2,5±1,1*	3,4±0,4*	3,7±0,6*	5,4±0,6	5,5±0,1
	АОС, мкмоль/дм3	40,3±3,8*	59,7±22,4*	81,3±8,4*	173,2±19,1	174,6±17,3
	АЛАТ, Е/дм3	91,5±10,9*	66,25±8,2*	65,5±18,52*	55,8±5,1	55,7±4,3
	АСАТ, Е/дм3	184,5±30,3*	132,3±22,3	122,3±59,3	130,3±11,2	129,1±13,1
	ГТП, Е/дм3	5,3±0,7*	4,8±0,7*	4,1±0,4	3,85±0,5	3,9±0,4
	Повреждаемый орган	Печень	Печень	Печень	-	-
Воспалительный	СРБ, мг/дм3	9,7±0,4*	8,8±0,5*	8,3±0,7*	5,3±0,4	5,25±0,21
	Повреждаемый орган	Сердце, легкие, ЖКТ	Легкие, ЖКТ	ЖКТ	-	-
Иммуно-раздражающий	Эозинофильно-лимфоцитарный индекс, у.е.	0,014±0,007*	0,02±0,005*	0,02±0,006*	0,032±0,004	0,032±0,003
	Повреждаемый орган	Селезенка	Селезенка	Селезенка	-	-
Гематоксический	Гемоглобин, г/дм3	116,5±12,3*	129,3±10,1*	147,3±11,2	149,2±9,5	144,5±12,5
	Повреждаемый орган	Селезенка	Селезенка	-	-	-

* Различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой, $p < 0,05$.

гативных эффектов воздействия нанодисперсного диоксида кремния проявляются в дозе 14,6 мг/кг (иммунораздражающий эффект, цитолиз и воспалительный эффект).

Таким образом, по результатам подострого эксперимента установлена пороговая доза, при которой наблюдается минимальный негативный эффект воздействия исследуемого вещества (LOAEL) – 14,6 мг/кг; и доза, при действии которой не выявлены вредные эффекты (NOAEL) – 7,3 мг/кг. Данные величины можно использовать для последующего расчета референтной дозы нанодисперсного диоксида кремния при пероральном пути поступления в организм. Критическими органами и системами органов для данного соединения являются иммунная система, печень, желудочно-кишечный тракт.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. World Nanotechnology: Innovation and Technology Trends. Nanotechnology Industry Market Research Reports. 2012. Avaible at: http://www.reportlinker.com/ci02344-p2/Nanotechnology.html/mode/public 319_1.pdf (дата обращения: 12.01.14).
2. Маркетинговое исследование рынка нанопорошков. Департамент маркетинговых исследований Research Techart. 2009. Avaible at: http://www.fimip.ru/shared/projects/1319/PRJ001319_1.pdf (дата обращения: 19.01.14).
3. *Meynen V., Cool P., Vansant E.F.* Verified syntheses of mesoporous materials. Microporous and mesoporous materials. 2009; 125: 170–223.
4. *Vallet-Regi M., Balas F., Arcos D.* Mesoporous Materials for Drug Delivery. Angew. Chem. Int. Ed. 2007; 46: 7548–7558.
5. *Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н., Саенко Е.В.* Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности водной суспензии нанодисперсного диоксида кремния, синтезированного методом жидкокристаллического темплатирования. Анализ риска здоровью. 2013; 1: 65–72.
6. *Nozawa K. Gailhanou H., Raison L., Panizza P.* Smart Control of Monodisperse Stolber Silica Particles: Effect of Reactant Addition Rate on Growth Process. Langmuir. 2005; 21: 1516–1523.
7. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. Washington: The national academies press, 2011.
8. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика / Под ред. Н.Е. Бузикашвили и соавт. – М.: Практика. – 1998. – 459 с.
9. *Блюгер А.Ф., Майоре А.Я.* Проблемы перекисного окисления липидов в гепатологии. Успехи гепатологии. Под ред. Е.М. Тареева, А.Ф. Блюгера. 1978; 7: 22–54.

REFERENCES:

1. World Nanotechnology: Innovation and Technology Trends. Nanotechnology Industry Market Research Reports. 2012. Avaible at: http://www.reportlinker.com/ci02344-p2/Nanotechnology.html/mode/public 319_1.pdf (accessed 12 January 2014).
2. Market research of nanopowders. Department of Marketing Research «Research Techart». 2009. Avaible at: http://www.fimip.ru/shared/projects/1319/ PRJ001319_1.pdf (accessed 19 January 2014).
3. Meynen V., Cool P., Vansant E.F.. Verified syntheses of mesoporous materials. Microporous and mesoporous materials. 2009; 125: 170–223.
4. Vallet-Regi M., Balas F., Arcos D. Mesoporous Materials for Drug Delivery. Angew. Chem. Int. Ed. 2007; 46: 7548–7558.
5. *Zaitseva N. V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Sayenko Ye.V.* Toxicological and hygienic safety assessment of the aqueous suspension of nano-dispersed silicon dioxide, synthesized using liquid-crystal templating. Health risk Analysis. 2013; 1: 65-72 (in Russian).
6. *Nozawa K. Gailhanou H., Raison L., Panizza P.* Smart Control of Monodisperse Stolber Silica Particles: Effect of Reactant Addition Rate on Growth Process. Langmuir. 2005; 21: 1516–1523.
7. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. Washington: The national academies press, 2011.
8. Glanz S. Biomedical Statistics. M.: Practice. 1998. 459 p (in Russian).
9. *Blyuger A.F. Mayore A.Ya.* Problems of lipid peroxidation in hepatology. Advances hepatology. 1978; 7: 22–54 (in Russian).

N.V. Zaitseva[1], M.A. Zemlyanova[1], P.Z. Shur[1], T.I. Akafeva[1,2]

RATIONALE FOR NO-OBSERVED-ADVERSE-EFFECT LEVEL (NOAEL) OF NANOSIZED SILICA AQUEOUS SUSPENSIONS AT ORAL INTAKE BASED ON RESULTS OF A SUB-ACUTE EXPERIMENT

[1]Federal Budgetary Science Institution «Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies» Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, 614 045, Perm, Russian Federation
[2]Federal State Budgetary Educational Institution «Perm State University», 614990, Perm, Russian Federation

Adverse effects were studied and critical organs and systems exposed to nanosized silica daily administrated intragastrically through a feeding tube were identified in 90 day experiment in white Wistar rats. NOAEL was substantiated. It was found out that the test substance may cause immune irritation , hemotoxic, cytolytic and inflammatory effects. Critical organs and systems for this compound in the sub-acute experiment were the immune system, liver, gastrointestinal tract. NOAEL was 7.3 mg / kg.

Key words: *silica, nanoparticles, subacute experiment, critical organs and systems, NOAEL.*

Материал поступил в редакцию 20.02.2014 г.

УДК: 615.9: 615.065:616-092.9

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛОРАТАДИНА

А.Б. Кузьминов

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

Проведена токсикологическая оценка антигистаминного препарата – лоратадина. Установлено, что по критерию острой пероральной токсичности лоратадин относится к веществам умеренно опасным, проявляет средневыраженный раздражающий эффект при попадании на слизистую оболочку глаз, оказывает влияние на функциональные показатели сперматогенеза. Вещество обладает сильной кумулятивной активностью, слабой или умеренной (в зависимости от концентрации и дозы) токсичностью на организменном (жизненность дафний) и клеточном (сперматозоиды быков) уровнях.

Ключевые слова*: лоратадин, токсикологическая оценка, раздражающий эффект, кумулятивная активность, сперматогенез.*

Введение. Антигистаминные препараты с действующим веществом лоратадин занимают одну из ведущих позиций по объему потребления на фармацевтическом рынке [1]. Широкое использование указанных препаратов обусловлено их доказанной эффективностью при лечении аллергического ринита и крапивницы [2, 3]. Среди зарубежных производителей на российском и украинском фармацевтическом рынке представлены препараты производства США, Великобритании, Индии, Венгрии, Швейцарии, Канады. Выпуск генерических версий осуществляется на ООО НПО ФАРМВИЛАР (Россия, г. Малоярославец), ЗАО «Зио-ЗДОРОВЬЕ» (Россия, г. Подольск), ЗАО «ФАРМПРОЕКТ» (Россия, г. Санкт-Петербург), ОАО «ФАРМСТАНДАРТ» (Россия, г. Москва), АКРИХИН ОАО химико-фармацевтический комбинат (Россия, г. Старая Купавна), ЗАО «Скопинский фармацевтический завод» (Россия, с. Успенское, Рязанская обл.), ПАО «Лекхим-Харьков» (г. Харьков), ПАО «Фармак» (г. Киев), ПАО «Киевмедпрепарат» (г. Киев), ПАО «Фармацевтическая фирма «Дарница» (г. Киев). Предельно допустимая концентрация лоратадина в воздухе рабочей зоны производственных помещений установлена на уровне 0,05 мг/м^3 [4] и свидетельствует о его чрезвычайной опасности (1-й класс опасности), как химического фактора производства. Сведения в доступной научной литературе о токсичности лоратадина носят ограниченный характер. В то время как для диагностики профессиональных заболеваний и разработки комплекса профилактических мероприятий необходимы данные о параметрах токсичности препарата, особенностях протекания острых и подострых интоксикаций, отдаленных эффектах воздействия.

В связи с этим *целью работы* была экспериментальная оценка токсичности лоратадина на лабораторных животных и альтернативных тест-системах.

Материалы и методы исследования. Лоратадин – этиловый эфир-4-(8-хлор-5,6-дигидро-11Н-бензо-[5,6]циклогепта-[1,2-b]пиридин-11-илиден)-1-пиперидинкарбоновой кислоты. Синонимы: Веро-Лоратадин, Кларитин, Ломелан, Лоратин, Кларотадин. CAS №: 79794-75-5. Эмпирическая формула: $C_{22}H_{23}N_2ClO_2$, молекулярная масса: 382,9. По внешнему виду – порошок белого цвета, умеренно растворимый в воде, мало растворим в гексане, практически нерастворим в спирте и хлороформе. Температура плавления: 131-137 °С. Содержание основного вещества 98,5–101,0% в перерасчете на сухое вещество. Производитель субстанции «FARMACHEM SA Chem Limited», Индия.

Исследования проведены в соответствии с методическими указаниями [5, 6, 7]. Использовано 4 вида лабораторных животных: нелинейные белые крысы, мыши, морские свинки и кролики, которые содержались в условиях вивария Львовского национального медицинского университета на стандартном пищевом рационе, согласно правилам «надлежащей лабораторной практики» (GLP) и соблюдением общих этических принципов экспериментов на животных, принятых 1-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2000).

Параметры токсичности лоратадина устанавливали при пероральном, перкутанном и интраназальном воздействии препарата на организм подопытных животных.

Кумулятивные свойства изучали в субхроническом эксперименте по методике Lim et al. [8].

Иммунотоксическое действие лоратадина изучали в соответствии с методическими рекомендациями [9].

Кузьминов Александр Борисович (Kuzminov Aleksandr Borisovich), научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории и лаборатории промышленной токсикологии Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого Минздрава Украины, 79010 г. Львов, Украина, alexander.kouzminov@gmail.com

Влияние лоратадина на репродуктивную функцию исследовали с учетом гонадотоксического [10] и эмбриотоксического эффектов [11].

Для оценки токсичности лоратадина на альтернативных тест-системах использовали ветвистоусых рачков *Daphnia magna Straus* и сперматозоиды быка.

Результаты и обсуждение. Среднесмертельная доза (DL_{50}) лоратадина при пероральном введении для белых мышей-самок установлена на уровне 1980 мг/кг, для белых мышей-самцов – 2375 (1131-4988) мг/кг, белых крыс-самок – 6150 мг/кг, белых крыс-самцов – 6230 мг/кг (3-й класс опасности – вещества умеренно опасные, ГОСТ 12.1.007-76). В клинической картине острого перорального отравления преобладают симптомы поражения центральной нервной системы.

Коэффициент видовой чувствительности составил 3,15, что свидетельствует о выраженной чувствительности лабораторных животных к действию лоратадина. Половая чувствительность не выражена.

10-кратное погружение хвостов белых мышей в насыщенный водный раствор лоратадина (время экспозиции 2 часа, 5 раз в неделю) не вызывало гибели животных и признаков интоксикации. Изменений на коже после окончания эксперимента не наблюдалось.

Внесение 50 мг лоратадина в конъюнктивальный мешок глаза кролика вызвало средневыраженное повреждающее действие: 4 балла (отек – 3 балла, гиперемия – 1 балл). Восстановление офтальмостатуса наблюдалось на 3-и сутки без проведения медикаментозного лечения.

При субхроническом введении лоратадина в нарастающих дозах у животных развивалась клиническая картина интоксикации с симптомами поражения центральной нервной системы. Коэффициент кумуляции препарата составляет 1,92, что указывает на сильную кумулятивную активность лоратадина.

При интраназальном введении белым крысам суспензии лоратадина в стерильном физиологическом растворе в дозах 64,0–71,8 мг, что в пересчете на вдыхаемую концентрацию, составляло 2000 мг/м^3, гибели животных не зафиксировано на протяжении всего периода наблюдения (14 суток). После введения препарата у белых крыс наблюдалось нарушение ритма дыхания. Состояние животных нормализовалось через 2–3 часа после окончания эксперимента.

С целью определения порога острого ингаляционного действия (Lim_{ac}) лоратадина препарат вводили интраназально белым крысам в дозах от 1,87 мг до 24,6 мг, что в пересчете соответствовало концентрациям 100 мг/м^3, 300 мг/м^3 и 900 мг/м^3.

У подопытных животных, которых подвергали воздействию препарата в концентрации 900 мг/м^3, на вторые сутки эксперимента наблюдалось статистически достоверное увеличение сумационно-порогового показателя (СПП) и количества циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Изменения со стороны остальных исследуемых показателей при воздействии лоратадина во всех концентрациях были недостоверны в течение всего эксперимента. Lim_{ac}, установленый по критерию изменения СПП и ЦИК, находится на уровне 900 мг/м^3.

При внутрикожной сенсибилизации морских свинок лоратадином не выявлено достоверных изменений в периферической крови животных. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови не изменялась. Фагоцитарный индекс находился на уровне контрольной группы. Препарат не влиял на показатели клеточного иммунитета. Со стороны гуморального звена имунитета у животных опытной группы зафиксировано достоверное повышение уровня ЦИК, однако этот показатель находился в границах колебаний физиологической нормы.

Пероральное введение лоратадина в дозе 62,3 мг/кг (1/100 DL_{50}) на протяжении 5 дней вызывало статистически достоверное снижение осмотической и кислотной резистентности сперматозоидов у крыс-самцов. Изменений морфометрических показателей сперматогенеза при воздействии лоратадина в дозах 62,3 мг/кг (1/100 DL_{50}) и 12,46 мг/кг (1/500 DL_{50}) не выявлено.

Введение лоратадина в дозах 1/1250 DL_{50} (4,92 мг/кг) и 1/6150 DL_{50} (1 мг/кг) беременным самкам крыс на протяжении 20 дней беременности не оказывало влияния на эмбриогенез, показатели доимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной летальности.

При оценке токсичности лоратадина на выживаемость дафний использовались концентрации препарата: 0,049 мг/л, 0,097 мг/л, 0,97 мг/л, 3,2 мг/л, 9,7 мг/л, 19,4 мг/л.

Наиболее интенсивное воздействие лоратадина происходило на вторые сутки. По смертности 50% и больше тест-объектов установлено, что выбранные концентрации относятся к слаботоксичным, 2-й класс токсичности (0,097 мг/л), и среднетоксичным, 4-й класс токсичности (0,97 мг/л – 19,4 мг/л). Среднесмертельные концентрации ($ЛК_{50}$) лоратадина для различной продолжительности биотестирования составили: $ЛК_{50}$ 24 ч – 1,2 мг/л ± 0,1; $ЛК_{50}$ 48 ч – 0,5 мг/л ± 0,1; $ЛК_{50}$ 72 ч – 0,2 мг/л ± 0,1; $ЛК_{50}$ 96 ч – 0,1 мг/л ± 0,1.

Цитотоксическое действие лоратадина исследовалось на свежеполученных эякулятах быков, разведенных фосфатно-солевым буфером, в который добавляли препарат в дозах 1/500 DL_{50} (12,3 мг), 1/100 DL_{50} (61,5 мг) и DL_{50} (6150 мг). Минимальное выживание сперматозоидов (112,0±26,15 ч) наблюдалось при воздействии лоратадина в дозе DL_{50} (6150 мг), что было ниже показателей контроля на 30,0%. Во всех исследуемых дозах лоратадин достоверно снижал дыхательную активность спермы по сравнению с показателями контрольной группы.

Выводы. 1. По параметрам острой токсичности лоратадин относится к веществам умеренно опасным (3-й класс опасности, ГОСТ 12.1.007-76). В клинической картине острой и субхронической интоксикации преобладают симптомы поражения центральной нервной системы.

2. Лоратадин обладает средневыраженным местно-раздражающим действием при попадании на слизистые оболочки. Проявляет сильную кумулятивную активность, оказывает влияние на функциональные показатели сперматогенеза.

3. Лоратадин не вызывает иммунотоксический эффект при внутрикожной сенсибилизации и эмбриотоксический

эффект при пероральном введении.

4. Лоратадин оказывает слабую либо умеренную (в зависимости от концентрации) токсичность на организменном уровне (жизнедеятельность дафний) и цитотоксическое действие, которое характеризуется сниженной интенсивностью окислительных процессов, что обуславливает потерю подвижности и уменьшение длительности выживания сперматозоидов быка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Зайченко Г.В., Яковлєва Л.В., Брюханова Т.О., Колос О.М.* Сучасні протиалергічні препарати: клініко-фармакологічні та фармакоекономічні особливості. Український медичний часопис. 2012; 6: 134–136.
2. *Дидковский Н.А., Малашенкова И.К.* Лоратадин (Кларидол) в терапии аллергических и пвсевдоаллергических заболеваний // Русский медицинский журнал. 2011; 18: 1156–1160.
3. *Абатуров А.Е.* Лоратадин – антигистаминное средство II поколения. Здоровье ребенка. 2008; 3: 51–55.
4. ГН 2.2.5.1827-03 Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. Дополнение № 1 к ГН 2.2.5.1313-03. М., 2004.
5. Методичні вказівки (МВ № 544 від 21.10.2005) «Обгрунтування гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і в атмосферному повітрі населених місць». Київ, 2005.
6. 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.
7. 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.
8. *Lim R.K., Rink K.G., Glass H.G., Soaje-Echague E.A.* A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Arch. Intern. Pharm. Ther. 1961; 130: 336–352.
9. Методичні рекомендації (МР 8.1.4.104-2003 від 25.07.2003) «Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігі\нічній регламентації». Київ, 2003. – 30 с.
10. *Стефанов О.В.,* ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). Київ: Авіцена, 2001.
11. 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.

REFERENCES:

1. *Zajchenko G.V., Jakovljeva L.V., Brjuhanova T.O., Kolos O.M.* Modern antiallergic drugs: clinical and pharmacological and pharmacoeconomical characteristics. Ukrai'ns'kyj medychnyj chasopys. 2012; 6: 134–136 (in Ukrainian).
2. *Didkovskiy N.A., Malashenkova I.K.* Loratadin (Klaridol) in therapy of allergic and pseudo-allergic diseases. Russkiy meditsinskiy zhurnal.2011; 18: 1156–1160 (in Russian).
3. *Abaturov A.E.* Loratadine - II generation antihistamine. Zdorov'e rebenka. 2008; 3: 51–55 (in Russian).
4. GN 2.2.5.1827-03 Maximum allowable concentration (MAC) of harmful substances in the air of the working area. Supplement 1 to GN 2.2.5.1313-03. Moscow, 2004.
5. Methodical guidelines (MV No 544 of 21.10.2005) «Substantiation of the maximum permissible concentration of drugs in the air of the working area and the air of populated areas». K., 2005.
6. Methodical guidelines (MU No. 2102-79 of 01.11.1979) «An assessment of influence of harmful chemical compounds on integuments and justification of maximum permissible levels of pollution of skin». Moscow, 1980.
7. Methodical instructions (MI No. 2196-80 of 11.08.1980) «Methodical instructions to statement of researches on studying of irritating properties and justification of maximum permissible concentration of selectively operating irritating substances in air of a working zone». Moscow, 1980.
8. *Lim R.K., Rink K.G., Glass H.G., Soaje-Echague E.A.* A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Arch.Intern. Pharm.Ther.1961; 130: 336–352.
9. Methodical guidelines (MR 8.1.4.104-2003 of 25.07.2003) «Research of immunotoxic effect of potentially dangerous chemicals at their hygienic regulation». K., 2003.
10. *Stefanov O.V.* ed. Preclinical studies of drugs. Kyiv: Avicenna, 2001 (in Russian).
11. Methodical instructions (MI No. 1744-77 of 10.07.1977) «Methods of a pilot study on establishment of thresholds of effect of industrial poisons on generative function for the purpose of hygienic rationing». Moscow, 1978.

A.B. Kuzminov

TOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LORATADINE

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

A toxicological evaluation of an antihistamine preparation Loratadine was conducted. It was found out that based on the criterion for acute peroral toxicity , Loratadine refers to moderately hazardous substances, shows an average irritation effect when contacting conjunctiva, produces impact on spermatogenesis functional indicators. The substance has a strong cumulative activity, is slightly or moderately toxic on the organism level (daphnia vitality) and cellular level (bull sperm cells).

Key words: *Loratadine, toxicological evaluation, cumulative activity, irritation effect, spermatogenesis.*

Материал поступил в редакцию 13.03.2014 г.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 504.45.054 :597.55

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОДИ ПЛОТВЫ RUTILUS RUTILUS L. ПРИ ПИТАНИИ КОРМОМ, ЗАГРЯЗНЕННЫМ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫМИ БИФЕНИЛАМИ И ХЛОРОРГАНИЧЕСКИМИ ПЕСТИЦИДАМИ

Е.А. Заботкина,
Т.Б. Камшилова,
Г.М. Чуйко

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН», 152742, пос. Борок Ярославской обл.

Исследованы количество микроядер, амитотический индекс и соотношение лейкоцитов в периферической крови и иммунокомпетентных органах годовиков плотвы, питавшихся фаршем из рыб, выловленных в Шекснинском и Моложском плесах Рыбинского водохранилища (содержание ПХБ в корме составило 50,8 нг/г и 3,7 нг/г сухой массы, соответственно). Полученные данные подтверждают мутагенную активность ПХБ и указывают на неспецифическую реакцию защитных систем организма рыб в ответ на загрязнение.

Ключевые слова: *плотва, полихлорированные бифенилы, микроядра, лейкоциты, фагоцитарная активность нейтрофилов.*

Введение. Загрязнение водоемов, особенно их донных грунтов, полихлорированными бифенилами (ПХБ) и хлорорганическими пестицидами (ХОП) представляет серьезную экологическую проблему. Опасность ПХБ и ХОП определяется их высокой устойчивостью к физическим, химическим и биологическим факторам, глобальной распространенностью, биоаккумуляцией за счет высокой липофильности и токсическим действием на организмы в очень малых дозах [11]. При включении в пищевые цепи происходит их биомагнификация, т.е. увеличение на порядок и выше на каждом последующем уровне трофической пирамиды [13].

Установлено эмбриотоксическое, терато- и мутагенное, иммуносупрессивное действие ПХБ и ХОП на позвоночных [1, 8, 16]. Они действуют на организм подобно гормонам, вызывают нарушения обмена железа, поражают эндокринную и половую системы [8], влияют на антиоксидантную защиту и пищеварительные ферменты [3, 15, 17].

Цель работы – изучить изменения некоторых показателей крови у молоди плотвы обыкновенной *Rutilus rutilus* L. при питании ее кормами с разной концентрацией ПХБ и ХОП.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на рыбе в возрасте 1+, массой 20,9 ± 2,7 г и длиной 11,6 ± 0,6 см, полученной путем искусственного оплодотворения производителей, выловленных в Волжском плесе Рыбинского водохранилища (58°30’ с.ш., 38°30 в.д.). Рыб подращивали на экспериментально-прудовой базе ИБВВ РАН и акклими-

Заботкина Елена Анатольевна (Zabotkina Elena Anatolyevna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН», пос. Борок Ярославской обл., zabel@ibiw.yaroslavl.ru
Камшилова Татьяна Борисовна (Kamshilova Tatyana Borisovna), научный сотрудник лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН», пос. Борок Ярославской обл., ktb@ibiw.yaroslavl.ru
Чуйко Григорий Михайлович (Chuiko Grigoriy Michaylovich), доктор биологических наук, заведующий лабораторией физиологии и токсикологии водных животных ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН», пос. Борок Ярославской обл., gko@ibiw.yaroslavl.ru

ровали к лабораторным условиям в течение 1 месяца. Условия акклимации и проведения эксперимента описаны ранее [3]. С начала эксперимента рыб кормили рыбным фаршем, приготовленным из мышц лещей, выловленных в Моложском (контроль) и Шекснинском (опыт) плесах Рыбинского водохранилища. Содержание ПХБ и ХОП в фарше составляло соответственно: ПХБ – 3,7 и 50,8, ДДТ и его метаболитов – 2,8 и 6,8, суммы изомеров ГХЦГ – 0,64 и 2,6, гексахлорбензола (ГХБ) – 0,19 и 0,17 мкг/кг сырой массы, соответственно [12].

Пробы для анализа отбирали в начале эксперимента (0 сут), через 52 и 169 суток экспозиции, обездвижив рыб методом оглушения. После каудотомии отбирали из хвостовых сосудов кровь для анализа фагоцитарной активности нейтрофилов и делали мазки периферической крови для исследования соотношения лейкоцитов, количества микроядер (МЯ) и амитотических делений в эритроцитах. Затем препарировали органы и делали мазки-отпечатки почек, селезенки и печени для анализа лейкопоэза. Мазки крови и мазки-отпечатки органов фиксировали этиловым спиртом, окрашивали по Романовскому-Гимза и просматривали под световым микроскопом.

Подсчет МЯ проводили на 1000 клеток и выражали в промилле [6]: амитозов – на 500 клетках [4], лейкоцитов – на 200 клетках и выражали в %. Рассчитывали индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ) [4]. Фагоцитарную активность оценивали по доле активированных нейтрофилов (ДАН, %) и индексу активности нейтрофилов (ИАН, усл. ед.) [5]. Результаты анализов в контрольной группе не отличались во все сроки отбора, поэтому в графе «0» во всех таблицах указаны средние по группе за время эксперимента.

Данные представлены в виде средних значений и их ошибок ($x \pm m_x$). Достоверность различий оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест, $p \leq 0,05$).

Результаты и обсуждения. Результаты исследований показали, что питание рыб кормом, содержащим ПХБ и ХОП, оказало влияние на все исследуемые показатели.

В контроле доля клеток с МЯ варьировала от 1,3 до 3,6‰. В опыте она была выше, но достоверные отличия зафиксированы только на 52-е сутки эксперимента (табл. 1). На 169-е сутки количество аберрантных клеток уменьшилось в 2 раза, но по-прежнему оставалось выше контроля, хотя различия стали недостоверными.

Количество рыб с амитозами в крови возрастало с увеличением экспозиции и к концу эксперимента все опытные рыбы имели амитозные клетки. Относительная доля амитозных клеток в течение всего периода наблюдений у всех рыб не превышала 0,4 %. Достоверность различий относительного числа амитозных клеток между контрольной и опытной группами рыб оценить не удалось, поскольку в контроле они были выявлены только у одной особи (табл. 1).

Оценка лейкограмм и их сдвига показала ряд изменений в ходе эксперимента в исследованных иммунокомпетентных органах рыб (рис. 1).

В наименьшей степени изменялось относительное количество плазматических клеток. Наиболее общей на действие ПХБ и ХОП была реакция лимфоцитов. Их доля у опытных рыб во всех органах, за исключением селезенки, в течение периода наблюдения была ниже контроля. В селезенке величина показателя сначала (52-е сутки) несколько снизилась, но к 169-м суткам достоверно превысила показания в контроле.

Относительное количество моноцитов в периферической крови рыб не отличалось в опыте и контроле. В почке и селезенке доля макрофагов достоверно возрастала на 52-е сутки, а к 169-м суткам была в 2 раза ниже контрольного уровня. В печени она более чем в 2 раза превышала контроль в течение всего эксперимента.

Доля гемоцитобластов в крови повысилась к 52-м суткам эксперимента, затем возвратилась к уровню контроля, тогда как в головном отделе почки она в 2,5 раза превысила контроль к 52-м суткам, а к 169-м суткам была в 2 раза ниже его. В туловищном отделе почки их доля в 2 раза превышала показатели контроля в течение всего опыта (рис. 1).

Доли миелоцитов, сегментоядерных нейтрофилов (СЯН) и эозинофилов не отличались в контроле и опыте во всех тканях. Изменения относительного количества метамиелоцитов в периферической крови, головном отделе почек и печени носили сходный характер, доли клеток достоверно увеличивались к концу опыта. В туловищном отделе почек величина

Таблица 1

Цитоморфологические показатели периферической крови годовиков плотвы

Экспозиция, сутки	Число рыб	Число рыб с микроядрами	Микроядра, (‰)	Число рыб с амитозами	Амитоз, (%)
0	4	3	$1,3 \pm 0,5^{1}$	1	0,4
52	$\frac{5}{5}$	$\frac{5}{5}$	$\frac{13,2 \pm 3,6^{2}}{3,6 \pm 0,7^{1}}$	$\frac{3}{1}$	$\frac{0,30 \pm 0,24^{1}}{0,4}$
169	$\frac{5}{3}$	$\frac{5}{3}$	$\frac{6,8 \pm 2,2^{1}}{3,0 \pm 0,6^{1}}$	$\frac{5}{1}$	$\frac{0,36 \pm 0,16^{1}}{0,2}$

Примечание: над чертой – опыт, под чертой – контроль; одинаковые цифры надстрочного индекса указывают на отсутствие достоверных отличий.

этого показателя к 52-м суткам резко снизилась (в 2 раза), а на 169-е сутки возросла. Количество ПЯН не изменялось только в крови, в головном отделе почек их доля достоверно снижалась на 52-е сутки опыта, а к 169-м суткам возвращалась к уровню контроля. В селезенке доля ПЯН возрастала к 52-м суткам эксперимента, а к 169-м была ниже контрольного уровня. В туловищном отделе почек и печени она была ниже в течение всего опыта.

Анализ ИСЛ показал его различную направленность в органах (табл. 2). В крови наблюдали повышение ИСЛ к концу эксперимента в 3 раза, в головном отделе почек – в 1,6 раза. В туловищном отделе почек после резкого снижения – в 2,5 раза на 52-е сутки, к концу эксперимента он немного превысил контроль. В селезенке ИСЛ снижался в течение всего опыта, а в печени – повышался.

Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов крови показало достоверное увеличение ДАН и ИАН как в спонтанном, так и индуцированном тестах только к 169-м суткам экспозиции (табл. 3).

Выявленные изменения свидетельствуют о негативном влиянии на рыб поступающих с кормом доз ПХБ и ХОП. Повышение доли клеток с МЯ в течение эксперимента указывает на цитогенетические нарушения и мутагенный эффект в соматических клетках плотвы. Известно, что уровень спонтанного мутагенеза у плотвы не превышает 3,11‰ [7]. У рыб частота встречаемости МЯ в эритроцитах положительно коррелирует с концентрацией ПХБ в воде и временем экспозиции [14]. Увеличение количества микроядер в эритроцитах периферической крови выявлено у самцов плотвы Rutilus rutilus (L.), инъецированных внутрибрюшинно Aroclor 1254 в дозе 10–100 мг/кг и у сеголеток, полученных путем искусственного скрещивания этих самцов и интактных самок [7]. Мутагенное влияние ПХБ на эритроциты периферической крови показано для вьюна *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor) [14].

Увеличение числа рыб с амитозами в эритроцитах также свидетельствует о токсическом эффекте. Амитоз считают одним из патоморфологических состояний клеток красной крови, указывающим на развитие дегенеративных и некробиотических процессов в организме, обусловленных разными причинами, в том числе и химическими токсикозами [2]. Амитоз может быть компенсаторной реакцией на функциональные перегрузки, голодание, денервацию и гипоксию у рыб [4].

Анализ изменения соотношения лейкоцитов свидетельствует о перестройке лейкопоэза у плотвы под действием ПХБ и ХОП. Лимфопения и нейтрофилия в периферической крови связаны с преобладанием незрелых форм гра-

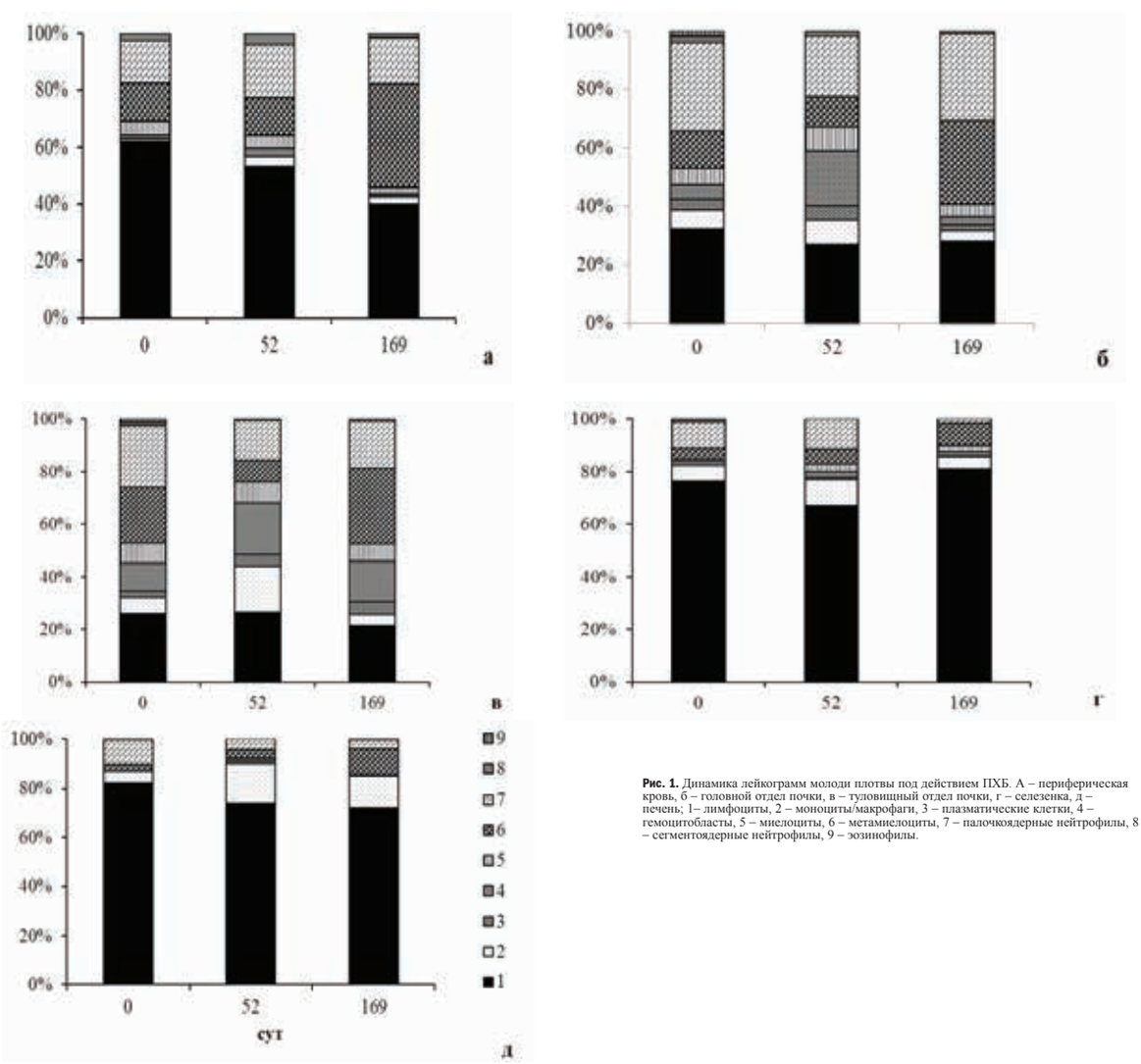


Рис. 1. Динамика лейкограмм молоди плотвы под действием ПХБ. А – периферическая кровь, б – головной отдел почки, в – туловищный отдел почки, г – селезенка, д – печень; 1– лимфоциты, 2 – моноциты/макрофаги, 3 – плазматические клетки, 4 – гемоцитобласты, 5 – миелоциты, 6 – метамиелоциты, 7 – палочкоядерные нейтрофилы, 8 – сегментоядерные нейтрофилы, 9 – эозинофилы.

Таблица 2

Динамика ИСЛ в периферической крови и внутренних органах молоди плотвы

Экспозиция, сутки	Периферическая кровь	Головной отдел почки	Туловищный отдел почки	Селезенка	Печень
0	0,54±0,16	1,20±0,10	1,53±0,09	0,37±0,15	0,08±0,04
52	0,57±0,01	1,03±0,05	0,66±0,08*	0,26	0,10±0,02
169	1,43±0,46*	1,90±0,13*	1,77±0,05*	0,15±0,02*	0,18±0,03*

Таблица 3

Изменение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов молоди плотвы

Экспозиция, сутки	ДАН, %		ИАН, отн. ед.	
	спонтанный	индуцированный	спонтанный	индуцированный
0	21,5 ±8,5	46,0±1,0	0,28±0,13	0,71±0,02
52	19,5±1,5 / 21,5 ±8,5	53,0±5,0 / 46,0±1,0	0,28±0,04 / 0,28±0,13	0,97±0,11 / 0,71±0,02
169	20,5±0,5* / 15,0±2,	57,0±1,0* / 41,0±6,0	0,31±0,01* / 0,20±0,05	1,05±0,03* / 0,67±0,06

нулоцитов и указывают на неспецифическую реакцию со стороны лейкоцитов, характерную для большинства токсикозов [5, 9]. Подобная реакция отмечена нами ранее у лещей *Abramis brama* L. в Шекснинском плесе Рыбинского водохранилища, донные отложения которого загрязнены стоками Череповецкого промышленного узла [10].

Вместе с тем, изменение соотношения лейкоцитов в органах рыб в течение эксперимента может быть связано с гибелью зрелых клеток, усиленным выбросом бластных форм из органов в кровоток. Направление изменений долей макрофагов в головном и туловищном отделах почек и селезенке происходит сходным образом – их количество резко увеличивается к 52-м суткам эксперимента, а затем, к 1 69-м суткам, падает ниже уровня контроля. Тогда как в печени доля макрофагов остается более чем в 3 раза выше контрольных значений в течение всего эксперимента, что, возможно, связано с ролью макрофагов в утилизации поврежденных клеток и процессах детоксикации, протекающих, в основном, в печени. ИСЛ, характеризующий направление лейкопоэза, свидетельствует о сдвиге лейкопоэза в целом в сторону увеличения миелоидного звена.

Анализ фагоцитарной активности нейтрофилов показывает увеличение как доли клеток, способных продуцировать активные формы кислорода, так и усиление активности самих клеток в опытной группе рыб. Учитывая изменение соотношения клеток в крови, способными к фагоцитозу оказываются и функционально незрелые клетки – метамиелоциты, а не только палочко- и сегментоядерные нейтрофилы.

Таким образом, выявленные изменения указывают на мутагенные и деструктивные процессы в органах кроветворения, и хронические воспалительные явления в организме рыб при алиментарном поступлении ПХБ и ХОП в исследованных дозах.

Заключение. Содержавшиеся в корме концентрации ПХБ и ХОП оказали влияние на все исследуемые показатели и подтвердили мутагенную активность этих соединений. Обнаруженные сдвиги в лейкопоэзе и увеличение фагоцитарной активности клеток свидетельствуют об активизации защитных систем, направленной на нейтрализацию действия токсиканта, а также о развитии хронических воспалительных процессов в организме рыб при длительном алиментарном поступлении ПХБ и ХОП в исследуемых дозах.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 08-05-00805а и 12-05-00572а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Авхименко М.М.* Медицинские и экологические последствия загрязнения окружающей среды полихлорированными бифенилами // Полихлорированные бифенилы. Супертоксиканты XXI века. № 5. М.: ВИНИТИ, 2000. С. 14–31.
2. *Алов И.А., Брауде А.И., Аспиз М.Е.* Основы функциональной морфологии клетки. М.: Медицина, 1969. 344 с.
3. *Голованова И.Л., Кузьмина В.В., Чуйко Г.М., Ушакова Н.В., Филиппов А.А.* Влияние полихлорированных бифенилов на активность протеиназ и карбогидраз в кишечнике молоди плотвы Rutilus rutilus (L.). // Биол. внутр. вод, 2011. № 2. С. 97–103.
4. *Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А.* Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте). Ростов-на-Дону: Эверест, 2004. 312 с.
5. *Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Назарова Е.А.* Влияние ионов кадмия на некоторые морфофункциональные и иммунофизиологические показатели сеголеток речного окуня Perca fluviatilis L. (Perciformes, Percidae) // Вопр. ихтиол. 2009. Т. 49, № 1. С. 117–124.
6. *Захидов С.Т., Позняков С.П., Урываева И.В., Хамидов Д.Х.* Метод учета микроядер в изучении мутагенных свойств пестицидов // Узбек. биол. ж. 1986. № 4. С. 54–57.
7. *Изюмов Ю.Г., Таликина М.Г., Чеботарева Ю.В., Чуйко Г.М.* Влияние Ароклора 1254 на эмбриональную гибель, количество микроядер и митоз в родительском и первом поколениях плотвы *Rutilus rutilus*(L.) // Биол. внутр. Вод, 2003. № 4. С. 85–91.
8. *Каримов Р.Р.* Исследование механизмов развития анемии при подострой интоксикации полихлорированными бифенилами: Автореф. дисс. канд .мед. наук. Тюмень, 2007. 24 с.
9. *Лапирова Т.Б., Заботкина Е.А.* Влияние пестицидов на иммунофизиологическое состояние рыб // Успехи соврем. биологии. 2004. Т. 124, № 4. С. 361–368.
10. *Лапирова Т.Б., Заботкина Е.А.* Сравнительный анализ показателей иммунофизиологического состояния леща *Abramis brama (*L.) из различных по степени загрязнения участков Рыбинского водохранилища// Биол. Внут р. вод, 2010. № 2. С. 86–91.
11. *Майстренко В.Н., Клюев Н.А.* Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. 323с.
12. *Чуйко Г.М., Законнов В.В., Морозов А.А., Бродский Е.С., Шелепчиков А.А., Фешин Д.Б.* Пространственное распределение и качественный состав полихлорированных бифенилов (ПХБ) и хлорорганических пестицидов (ХОП) в донных отложениях и леще (Abramis brama L.) из Рыбинского водохранилища // Биол. внутр. вод, 2010. № 2. С. 98–108.
13. *Buckman A.H., Wong Ch.S., Chow E.A., Brown S.B., Solomon K.R., Fisk A.T.* Biotransformation of polychlorinated biphenyls (PCBs) and bioformation of hydroxylated PCBs in fish // Aquat. Toxicol., 2006. Vol. 78, № 2. P. 176–185.
14. *Chu S., Xi Z., et al.* Induction of Micronuclei in Peripheral Erythrocytes of Misgurnus anguillicaudatus by Polychlorinated Biphenils // Bul. Environ. Contam. Toxicol., 1996. Vol. 57. P. 179–182.
15. *Devaux A., Flammarion P., Bernardon V., Garric J., Monod G.* Monitoring the chemical pollution of the river Rhone through measurement of DNA damage and cytochrome P450 1A induction in Chub (*Leucisccus cephalus*) // Mar. Environ. Res. 1998. Vol. 46. № 1–5. P. 257–262.
16. *Iwanowicz L.R., Lerner D.T., Blazer V.S., McCormick S.D.* Aqueous exposure to Aroclor 1254 modulates the mitogenic response of Atlantic salmon anterior kidney T-cells: Indications of short- and long-term immunomodulation // Aquat. Toxicol., 2005. Vol. 72. № 4. P. 305–314.
17. *Otto D.M.E.* Polychlorinated biphenyl (PCB) alterations of antioxidant defenses and xenobiotic metabolism in teleost fish: role of tissue glutathione metabolism in xenobiotic detoxication pathways//Diss. Abst. International, 1998. Vol. 58, № 6. P. 2998.

REFERENCES:

1. *Avchimencko M.M.* Medical and ecological consequences of pollution of the environment by polychlorinated biphenils // Polychlorinated biphenils. Supertoxicants of XX centh. № 5. M.: VINITI, 2000. P. 14–31.(in Russian)
2. *Alov I.A., Braude A.I., Aspiz M.E.* Theory of cell functional morphology. M.: Medicina, 1969. 344 p. (in Russian)
3. *Golovanova I.L., Kuz`mina V.V., Chuiko G.M., Ushakova N.V., Filippov A.A.* Effect of polychlorinated biphenyls on activities of intestinal proteinases and carbohydrases in young roach *Rutilus rutilus* (L.) // Inland water biology. 2011. № 2. P. 97–103. (in Russian)
4. *Zhiteneva L.D., Makarov E.V., Rudnitskaya O.A.* The fundamentals of ichthtyohematology (in comparative aspect). Rostov-on-Don: Everest, 2004. 312 p. (in Russian)
5. *Zabotkina E.A., Lapirova T.B., Nazarova E.A.* Influence of Cadmium Ions on Some Morphofunctional and Immune-Physiological Parameters of Perch (Perciformes, Percidae) Underyearlings *Perca fluviatilis* // Journal of Ichthyology. 2009. Vol. 49, №. 1. P. 111–118. (in Russian)
6. *Zachidov S.T., Poznyakov S.P., Uryvaeva I.V., Hamidov D.H.* The method of micronuclei calculation in investigation of pesticide mutagens // Uzbek. Biol. J. 1986. № 4. P. 54–57. (in Russian)
7. *Izyumov Yu.G., Talikina M.G., Chebotareva Yu.V., Chuiko G.M.* Effect of Aroclor 1254 on embryonic ruin, quantity of micronuclei and mitosis at parents and first generation in roach *Rutilus rutilus*(L.) // Inland water biology. 2003. № 4. P. 85–91. (in Russian)
8. *Karimov R.R.* Study of developmental mechanisms of anemia at suba0cute intoxication by polychlorinated biphenils. Abstract of diss. C.m.s. Tyumen, 2007. 24 p. (in Russian)
9. *Lapirova T.B., Zabotkina E.A.* Effect of pesticide on immunophisiological state of fish // Progress of modern biology. 2004. Vol. 124, № 4. P. 361–368. (in Russian)
10. *Lapirova T.B., Zabotkina E.A.* The comparative analysis of immunophysiological status parameters of bream from differently polluted parts of the Rybinsk reservoir // Inland water biology. 2010. № 2. P. 86–91. (in Russian)
11. *Maystrenko V.N., Klyuev N.A.* Ecological and analytic monitoring of resistant organic pollutions. M.: BINOM. Laboratory of knowledge, 2004. 323 p. (in Russian)
12. *Chuiko G.M., Zakonnov V.V., Morozov A.A., Brodskii E.S., Shelepchikov a.a., Feshin D.B.* Spatial distribution and qualitative composition of polychlorinated biphenils (PCBs) and organochlorine pesticides (Ops) in bottom sediments and bream (*Abramis brama* L.) from the Rybinsk reservoir // Inland water biology. 2010. № 2. P. 98–108. (in Russian)
13. *Buckman A.H., Wong Ch.S., Chow E.A., Brown S.B., Solomon K.R., Fisk A.T.* Biotransformation of polychlorinated biphenyls (PCBs) and bioformation of hydroxylated PCBs in fish // Aquat. Toxicol., 2006. Vol. 78, № 2. P. 176–185.
14. *Chu S., Xi Z., et al.* Induction of Micronuclei in Peripheral Erythrocytes of Misgurnus anguillicaudatus by Polychlorinated Biphenils // Bul. Environ. Contam. Toxicol., 1996. Vol. 57. P. 179–182.
15. *Devaux A., Flammarion P., Bernardon V., Garric J., Monod G.* Monitoring the chemical pollution of the river Rhone through measurement of DNA damage and cytochrome P450 1A induction in Chub (*Leucisccus cephalus*) // Mar. Environ. Res. 1998. Vol. 46. № 1–5. P. 257–262.
16. *Iwanowicz L.R., Lerner D.T., Blazer V.S., McCormick S.D.* Aqueous exposure to Aroclor 1254 modulates the mitogenic response of Atlantic salmon anterior kidney T-cells: Indications of short- and long-term immunomodulation // Aquat. Toxicol., 2005. Vol. 72. № 4. P. 305–314.
17. *Otto D.M.E.* Polychlorinated biphenyl (PCB) alterations of antioxidant defenses and xenobiotic metabolism in teleost fish: role of tissue glutathione metabolism in xenobiotic detoxication pathways//Diss. Abst. International, 1998. Vol. 58, № 6. P. 2998.

E.A. Zabotkina, T.B.Kamshilova, G.M. Chuiko

CHANGES OF SOME HEMATOLOGICAL INDICATORS IN ROACH YOUNG RUTILUS RUTILUS L. FED WITH FOOD CONTAMINATED WITH POLYCHLORINATED BIPHENYLS AND ORGANOCHLORIDE PESTICIDES

Federal State Budgetary Science Institution" I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters", Russian Academy of Sciences, 152742, Borok, Yaroslavl Region, Russian Federation

The number of micronuclei, amitotic index and leukocytes balance were investigated in peripheral blood and immune competent organs of one year old roach fed with stuffing of fishes captured in the Sheksna and Molozh stretches of water in the Rybinsk reservoir (concentration of PCB in the feed was 50.8 ng/g and 3.7 ng//g ,dry weight accordingly). Data obtained prove PCB mutagenic activity and show non-specific response of fishes protective systems to the pollution.

Key words: *roach, polychlorinated biphenyls, micronuclei, leukocytes, neutrophils phagocytic activity.*

Материал поступил в редакцию 15.01.2014 г.

УДК 504.45.054 : 597.55

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ИММУНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ЛЕЩА ABRAMIS BRAMA РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Н.И. Силкина, В.Р. Микряков, Д.В. Микряков

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 152742, Борок, Некоузского района, Ярославской области

Приведены результаты сравнительного исследования иммуно-физиологических показателей леща *Abramis brama*, обитающего в разных по уровню антропогенной нагрузки районах Рыбинского водохранилища по данным анализа антимикробных свойств сыворотки крови и соматических индексов иммунокомпетентных органов. Рыбы из загрязненных участков Шекснинского плеса отличались от таковых из условно незагрязненного Волжского плеса низкими величинами уровня бактерицидной активности сыворотки крови и соматических индексов почек и селезенки и высокими – иммунодефицитных особей и соматическим индексом печени.

***Ключевые слова**: лещ, Рыбинское водохранилище, иммуно-физиологические показатели.*

Введение. Одним из крупнейших водоемов озерного типа, постоянно подвергающихся загрязнениям сточными водами промышленных предприятий г. Череповца (АО «Северсталь», «Азот» и др.), является Рыбинское водохранилище с площадью водного зеркала 4580 км^2 и объемом воды 24,5 км^3 [5]. В составе сточных вод в водоем поступают разные по природе токсичные для гидробионтов соединения – полиароматические углеводороды, полихлорированные бифенилы, сложные эфиры, кислоты, соли тяжелых металлов, соединения азота, фенолы и др. [3, 4, 14].

Известно, что рыбы, обитающие в загрязненной зоне, отличаются от таковых из чистых акваторий низкими темпами роста и выживания, высокими величинами зараженности паразитами и естественной смертности [3, 8, 15]. Все это свидетельствует о глубоких нарушениях, происходящих в функционировании иммунологических и биохимических механизмов гомеостаза, обеспечивающих оптимальный рост, развитие и индивидуальную целостность организма в онтогенезе, а также адаптацию рыб к неблагоприятным факторам среды [4, 7, 14].

Лещ – один из основных промысловых видов, обитающих в Рыбинском водохранилище [1]. Это типичный бентофаг семейства карповых *Cyprinidae*, его основную пищу составляют олигохеты, хирономиды, мелкие ракообразные, моллюски и т.д. [11]. Сведений о характере влияния многокомпонентного антропогенного загрязнения на физиологические и иммунологические показатели различных по экологии пресноводных рыб, обитающих в экосистемах, испытывающих интенсивный антропогенный пресс, в доступной литературе недостаточно.

Цель нашей работы – сравнительный анализ некоторых физиологических и иммунологических показателей леща *Abramis brama*, обитающего в разных по уровню антропогенной нагрузки районах Рыбинского водохранилища.

Материал и методы исследования. Материалом для исследования послужили 70 особей леща, отловленных тралом в сентябре 2003 г. в противоположных районах Рыбинского водохранилища: на загрязненных участках Шекснинского плеса вблизи г. Череповца и на станциях условно незагрязненного Волжского плеса (рис. 1).

Исследование физиологических и иммунологических показателей проводили по данным анализа соматического индекса иммунокомпетентных органов (печень, почка, селезенка) и функционального состояния гуморальных факторов иммунитета.

Соматический индекс рассчитывали согласно общепринятой методике [10]. Функциональное состояние гуморального звена неспецифического иммунитета оце-

Силкина Нина Иосифовна (Silkina Nina Iosifovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, sni@ibiw.yaroslavl.ru
Микряков Вениамин Романович (Mikryakov Veniamin Romanovich), профессор, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, mvr@ibiw.yaroslavl.ru
Микряков Даниил Вениаминович (Mikryakov Daniil Veniaminovich), кандидат биологических наук, заведующий лабораторией иммунологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, daniil@ibiw.yaroslavl.ru

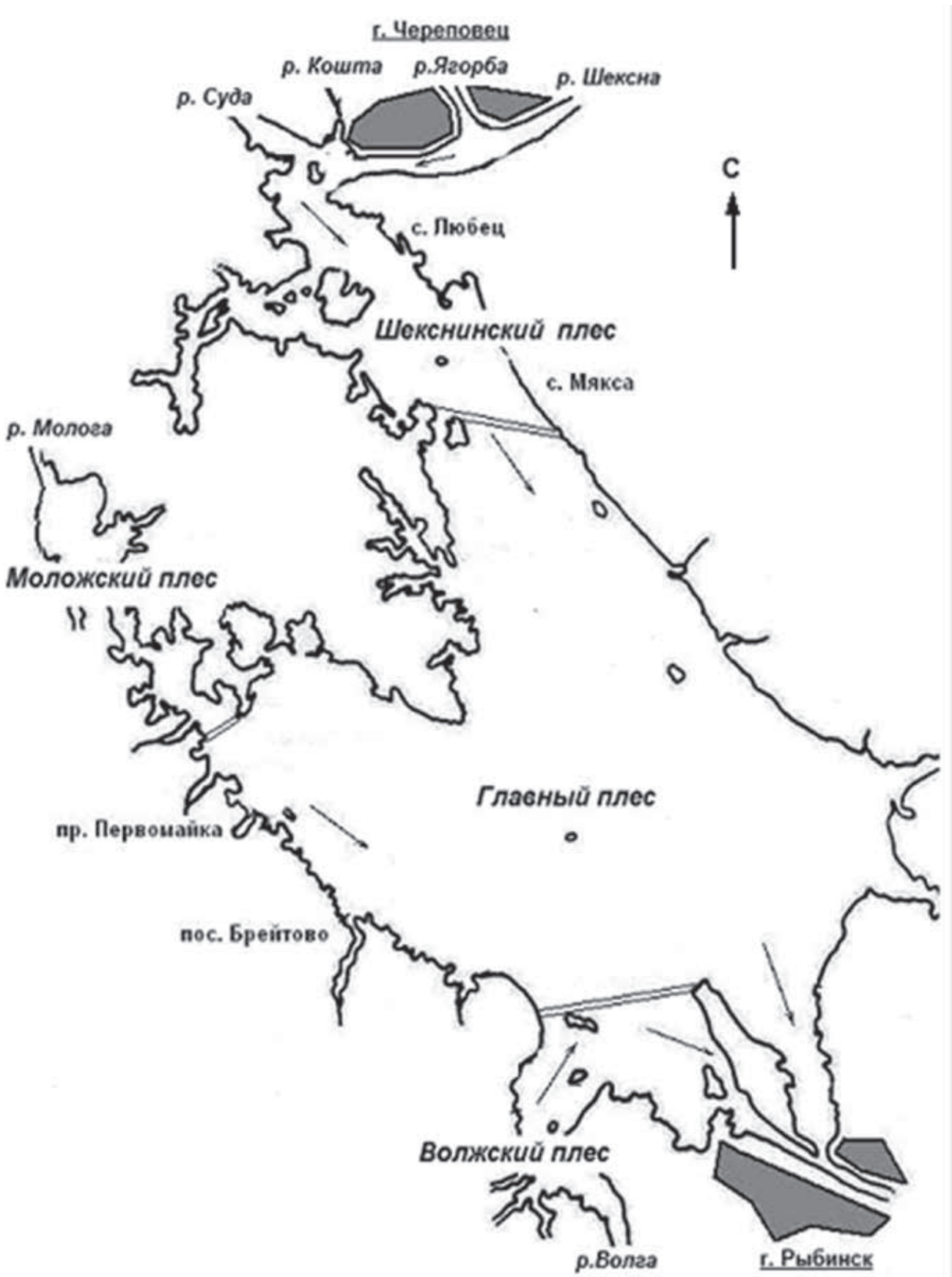


Рис. 1. Карта-схема Рыбинского водохранилища.

нивали по бактериостатическим свойствам сыворотки крови (БАСК), которые определяли нефелометрическим методом, адаптированным нами для рыб [6]. В качестве тест-бактерий использовали суточную бактериальную культуру *Aeromonas hydrophila*. Учитывали долю иммунодефицитных по БАСК особей (ИМД), сыворотка крови которых не угнетала развития тест-микробов.

Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (приложение Statistica 6.0) с использованием t-теста, $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Сравнительный анализ полученных результатов показал, что рыбы, отловленные в разных районах Рыбинского водохранилища, достоверно отличались по величине исследуемых показателей (табл.).

Высокие значения индексов печени, установленные среди рыб Шекснинского плеса, видимо, обусловлены интоксикацией организма поллютантами. Более низкие индексы почек и селезенки лещей в загрязненной зоне отражают атрофию этих органов, вследствие токсикантиндуцирующими процессами цирроза и истощения лимфо-миелоидной ткани этих органов [7, 14].

Низкий уровень БАСК, отражающий функциональное состояние гуморальных факторов естественного иммунитета (системы комплемента, лизоцима, b-лизина, пропердина и др.) [6], и высокая доля ИМД особей, выявленных в выборке рыб из Шекснинского плеса по сравнению с таковыми из Волжского плеса, свидетельствуют об иммуносупрессивном действии загрязнений на механизмы врожденного гуморального иммунитета под влиянием токсикантов.

Таким образом, проведенные исследования показали существенные различия в функционировании иммуно-физиологических механизмов гомеостаза у леща, обитающего в разных плесах Рыбинского водохранилища. Рыбы из Шекснинского плеса отличались от таковых из Волжского плеса низкими величинами уровня БАСК и соматических индексов почек и селезенки и высокими – ИМД особей и соматическим индексом печени. Аналогичные структурно-функциональные изменения ранее установлены у лещей из водоемов Южного Урала, р. Кубани и у других видов рыб из водоемов Кольского полуострова, Карели (Костомужского водохранилища), обитающих в антропогенно трансформированных пресноводных экосистемах, загрязненных сточными водами крупных населенных пунктов, промышленных и горно-обогатительных предприятий и т.д. [2, 7–9,12–14].

Заключение. Установленные модификации в функционировании иммуно-физиологических механизмов гомеостаза рыб из Шекснинского плеса следует рассматривать как типичную адаптивную реакцию рыб на загрязняющие вещества. Поллютанты, поступающие со сточными водами промышленных и коммунально-бытовых предприятий г. Череповца, – причина нарушения иммунофизиологического статуса леща, проявляющегося супрессией функций иммунной системы и снижением адаптационного потенциала рыб. Выявленные отличия иммунофизиологических показателей отражают характер влияния поллютантов на рыбное население и условия среды обитания. Полученные материалы могут служить основой для понимания процессов адаптации рыб к возмущающим факторам среды, оценке последствий антропогенного загрязнения на состояние здоровья рыб и качество воды, прогнозирования состояния популяций рыб.

Таблица

Показатели иммуно-физиологического статуса леща Рыбинского водохранилища

Место отлова	Число рыб, экз.	Масса рыб, г	Индексы иммунокомпетентных органов, %			БАСК, %	ИМД особи, %
			печень	почка	селезенка		
Волжский плес:							
д. Коприно	16	251	1,99±0,12	0,44±0,08	0,68±0,04	33,9±5,5	39,6±3,8
о. Шумаровский	10	264	1,95±0,28	0,45±0,01	0,64±0,05	31,8±6,3	50,8±8,8
среднее	26	257	1,97	0,45	0,66	32,8	45,2
Шекснинский плес:							
о. Ваганиха	13	284	2,19±0,12	0,33±0,10	0,58±0,03	21,8±3,6	72,2±1,2
ст. Любец	10	307	1,92±0,12	0,41±0,04	0,61±0,05	9,9±4,2	64,5±9,7
д. Мякса	21	294	2,25±0,12	0,37±0,06	0,54±0,03	26,6±8,4	59,8±5,1
среднее	44	295	2,12*	0,37*	0,57*	19,4*	65,5*

* Достоверно для значений относительно Волжского плеса при $p \leq 0,05$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Герасимов Ю. В., Бражник С. Ю., Стрельников А.С.* Динамика структурных показателей популяции леща Abramis brama (Cyprinidae) Рыбинского водохранилища за период 1954–2007 г. Вопросы ихтиологии. 2010; 50 (4): 515–524.
2. *Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.А.* Рыбы пресных вод Субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения. Апатиты: Изд. КНЦ РАН, 1999.
3. *Колпакова Е.С., Лулоф И., Руттемаан Й.* Проект «Волга» в г. Череповце. Нижний Новгород: Экологический центр «Дронт», 1996.
4. *Копылов А.И.,* ред. Экологические проблемы Верхней Волги. Ярославль: Изд-во ЯГТУ, 2001.
5. *Кузин Б.С.,* ред. Рыбинское водохранилище и его жизнь. Л.: Наука; 1972.
6. *Микряков В.Р.* Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991.
7. *Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А.* и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука, 2001.
8. *Моисеенко Т.И.* Водная экотоксикология: Теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009.
9. *Немова Н.Н., Ильмаст Н.В., Иешко Е.П., Мещерякова О.В.,* ред. Биота северных озер в условиях антропогенного воздействия. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2012.
10. *Правдин И.Ф.* Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). М.: Пищевая промышленность, 1966.
11. *Решетников Ю.С.,* ред. Атлас пресноводных рыб России. Т. 1. М.: Наука, 2002.
12. *Силкина Н.И., Микряков В.Р., Микряков Д.В.* Особенности липидного обмена леща *Abramis brama*, обитающего в реках Южного Урала. Экология. 2010; (6): 403–408.
13. *Силкина Н.И., Микряков Д.В., Микряков В.Р.* Некоторые иммунобиохимические показатели леща *Abramis brama*, обитающего в реке Кубань. Экология. 2013; (4): 296–299.
14. *Флеров Б.А.,* ред. Влияние стоков Череповецкого промышленного узла на экологическое состояние Рыбинского водохранилища. Рыбинск: ИБВВ АН СССР, 1990.
15. *Флеров Б.А., Микряков В.Р., Куперман Б.И.* Инвазионные и инфекционные процессы у рыб при токсическом воздействии. В кн.: Гельминты в пресноводных биоценозах. М.: Наука, 1982: 58–67.

REFERENCES:

1. *Gerasimov Yu.V., Brazhnik S.Yu., Strelnikov A.S.* Dynamics of structural parameters of populations of the bream Abramis brama (Cyprinidae) in Rybinsk Reservoir in 1954–2007. Journal of Ichthyology. 2010; 50 (6): 465–474. (in Russian)
2. Kashulin N.A., Lukin A.A., P.-A. Amundsen. Fish of Subarctic freshwater systems as bioindicator of industrial pollution. Apatity: Kola Science Centre Russian Academy of Sciences, 1999. (in Russian)
3. Kolpakova E.S., Lulof I., Ruttemaan I. The Volga in Cherepovets Project. Nizhnii Novgorod: Ekotsentr «Dront», 1996. (in Russian)
4. *Kopylov A.I.,* Ed. Ecological Problems in the Upper Volga Region. Yaroslavl: YaGTU, 2001. (in Russian)
5. *Kuzin B.S*, Ed. The Rybinsk Reservoir and Its Life. Leningrad: Nauka, 1972. (in Russian)
6. *Mikryakov V.R.* Regularities of Formation of Acquired Immunity in Fishes. Rybinsk: Inst. Biol. Vnutr. Vod, Ross. Akad. Nauk, 1991. (in Russian)
7. *Mikryakov V.R., Balabanova L.V., Zabotkina E.A. et al.* Responses of fish immune system to toxic water pollution and acidification. Moscow: Nauka, 2001. (in Russian)
8. *Moiseenko T.I.* Aquatic toxicology: theoretical and applied aspects. Moscow: Nauka, 2009. (in Russian)
9. *Nemova N.N., Ilmast N.V., Ieshko E.P., Meshcheriakova O.V.* Ed. Biota northern lakes in the conditions of anthropogenous influence. Petrozavodsk: Kola Science Centre Russian Academy of Sciences; 2012. (in Russian)
10. *Pravdin I.F.* Study of fishes (mainly fresh-water). Moscow: Food-processing industry, 1966. (in Russian)
11. *Reshetnikov Yu.S.,* Ed. An Atlas of Freshwater Fishes of Russia. Moscow: Vol. 2. Nauka, 2002. (in Russian)
12. *Silkina N.I., Mikryakov V.R., Mikryakov D.V.* Characteristics of Lipid Metabolism in Bream, *Abramis brama*, from Southern Ural Rivers. Russian Journal of Ecology. 2010, 41. (6): 539–541. (in Russian)
13. *Silkina N.I., Mikryakov D.V., Mikryakov V.R.* Effect of Anthropogenic Pollution on Oxidative Processes in the Liver of Fish from the Rybinsk Reservoir. Russian Journal of Ecology. 2012; 43. (6): 386–389. (in Russian)
14. *Flerov B.A.,* Ed. The Impact of Waste Waters of the Cherepovets Industrial Complex on the Ecological Situation of the Rybinsk Reservoir. Rybinsk: Inst. Biol. Vnutr. Vod AN SSSR, 1990. (in Russian)
15. *Flerov, B.A., Mikryakov, V.R., and Kuperman B.I.* Invasion and Infection Processes in Fishes Exposed to Toxic Impacts. In book: Helminths in Freshwater Biocenoses. Moscow: Nauka, 1982. (in Russian)

N.I. Silkina, V.R. Mikryakov, D.V. Mikryakov

EFFECT OF ANTHROPOGENIC POLLUTION ON IMMUNE AND PHYSIOLOGICAL STATUS OF THE BREAM ABRAMIS BRAMA IN THE RYBINSK RESERVOIR

Federal State Budgetary Science Institution «I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters», Russian Academy of Sciences, 152742, Borok, Yaroslavl Region, Russian Federation

Results are presented of a comparative investigation into immune and physiological indicators in the bream *Abramis brama* inhabiting various parts of the Rybinsk reservoir differing in levels of anthropogenic burden. The analysis is based on antimicrobial properties of blood serum and somatic indices in immune competent organs. Fishes in polluted parts of the Sjeksna stretch of water were distinguished from those in the deemed non polluted Volzhsk stretch of water by low values of bactericidal activity level of blood serum and somatic indices in kidneys and spleen, high level of immune deficient fishes and liver somatic index.

Key words: *bream, immune and physiological indicators, Rybinsk reservoir.*

Материал поступил в редакцию 27.12.2013 г.

«СЪЕЗДЫ И КОНФЕРЕНЦИИ»

53 ЕЖЕГОДНЫЙ СЪЕЗД АМЕРИКАНСКОГО ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА (SOT)

(SOT 53 rd Annual Meeting)

23–27 марта 2014 г. в Фениксе (Аризона, США) прошел 53-й ежегодный съезд Американского токсикологического общества, в работе которого приняли участие более 7000 делегатов, среди которых руководство Всемирной токсикологической организации (IUTOX), Европейской токсикологической организации (EUROTOX), представители токсикологических обществ Южной Кореи, Австралии, Германии, Польши, Бельгии, Великобритании, Российской Федерации, Новой Зеландии, Кении, Ганы, Японии, Эфиопии.

В рамках 53-го ежегодного съезда Американского токсикологического общества проводились пленарные открытые лекции, более 200 симпозиумов, круглых столов, семинаров, рабочих групп. Научная программа съезда включала следующие направления токсикологии:

СИМПОЗИУМЫ:

Достижения клинической и трансляционной токсикологии и применение биомаркеров

Клиническая оценка новых биомаркеров при повреждении почек, вызванном лекарственными препаратами.

Нейроиммунное взаимодействие.

Перинатальные воздействия и последствия для детского здоровья.

Насекомые и иммунная система: польза и последствия изменения кишечной флоры.

Развитие стратегий по оценке риска

Новые научные достижения и перспективы в изучении воздействий окружающей и производственной среды.

Компьютерные подходы к прогнозу токсичности при повторных дозах. Уроки, полученные при исследованиях косметических компонентов.

Влияние эволюция на испытания токсичности в XXI веке.

Новые достижения и перспективы в исследовании внешних и профессиональных воздействий

Загрязнение воздуха и сердечно-сосудистые эффекты: механизмы и роль перекисного окисления липидов.

Токсичность углеродных трубок в экспериментальных моделях.

Изучение взаимодействия между загрязнением воздуха и метаболическим синдромом. Дилемма: хорошо и плохо.

Механизм действия метилртути: новые подходы к пониманию старой проблемы.

Три аспекта пульмонарной токсичности, вызванной наноматериалами: врожденный иммунитет, устранение рестеноза, инфламмасома.

Оценка безопасности: механизмы и новейшие методы

In vitro системы: передовые регуляционные достижения благодаря инновациям.

Механизмы разрушения восстановленного ДНК, вызванного воздействием металлов.

Молекулярные механизмы, связанные с нейроглиальной токсичностью: от оксидативного стресса к окислительно-восстановительной сигнальной трансдукции.

Окулярная иммунотоксикология:

Перспективная роль митохондриальной циркуляции, биогенезиса и динамики при повреждении тканей.

Модели стволовых клеток в комплексной биологии

Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки человека и их дифференцированные клетки-потомки: использование в испытаниях на токсичность.

Роль арил-гидрокарбоновых рецепторов в развитии стволовых клеток и их линейная спецификация.

Использование стволовых клеток в испытаниях на токсичность – от базовых исследований к индивидуальной токсикологии

СЕМИНАРЫ ПО ТЕМАМ:

Информирование общественности о значимости токсикологии.

Содействует ли дофаминовая нейронная дегенерация или дисфункция развитию паркинсонизма, вызываемого марганцем?

Скептический пересмотр пределов токсикологической доказательности в судебных расследованиях (в зале суда).

Роль токсикологии в реформе профессионального среднего образования при преподавании предметов, связанных с наукой, технологиями, машиностроением и математикой.

СЕССИИ СЕМИНАРОВ, СВЯЗАННЫЕ С ОСНОВНЫМИ НАПРАВЛЕНИЯМИ ЗАСЕДАНИЯ SOT, КОТОРЫЕ ПЕРЕЧИСЛЕНЫ В ТЕМАТИКЕ СИМПОЗИУМОВ

Биомаркеры

Эмбриональное программирование метаболизма печени: оценка влияния перинатального воздействия ксенобиотиков.

Эмбриональная токсичность от химических смесей: исследования в отношении предрасположенных групп населения.

Повышение безопасности пищевых добавок и естественных продуктов медицинского назначения путем оценки эффектов на людях.

Терапия с использованием соматических клеток – парадигмы для исследования новых лекарств, научные и регуляторные аспекты и клиническая трансляция.

Оценка риска

Концептуальная схема для оценки риска в XXI веке.

Концепция «Неблагоприятный результат путей исследования» (Adverse out come path way (AOP) в применении к нейротоксикологии.

Геномика в регулировании токсичных веществ и споры в эпоху Полного геномного секвенирования.

Внешнее и профессиональное воздействие
Являются ли виды биотоплива так же токсичны, как традиционные виды топлива. Последствия для человека.
Новые проблемы и новые научные изыскания в отношении воздействий асбеста на окружающую среду.
Оценка безопасности
О неопределенностях в токсикологии наноматериалов в пищевых продуктах и в изделиях, контактирующих с продуктами.
Достижения в применении технологии формирования изображения к внутриутробной токсикологии.
Гены специфических калиевых каналов сердца (hERG).
Вклад неиммунных клеток в неблагоприятные неиммунные реакции: последствия для токсикологии.
Базы данных, облегчающие использование биологии систем в токсикологии.
Идиосинкразия клеток в культуре: уроки из генетической токсикологии.
Оценка фотобезопасности фармацевтических продуктов без испытаний на животных.
Роль циркулирующих факторов в опосредованной системной токсичности вдыхаемых веществ.
Научно-обоснованная доклиническая оценка безопасности: принятие решений, направленных на повышение успешности регламентационных мер.
Перспективы трансляционной визуализации в неклинической оценке безопасности.
Использование собак и карликовых свиней в качестве альтернативы нечеловекообразных обезьян для неклинической оценки безопасности биофармацевтических продуктов.
ЗАСЕДАНИЯ КРУГЛЫХ СТОЛОВ
Факторы окружающей среды в дисрегуляции времени наступления половой зрелости и ее развитии.
Гидравлические разрывы (нефтепромысел): имеются ли проблемы со здоровьем рабочих?
ОСНОВНЫЕ ИСТОРИЧЕСКИЕ МОМЕНТЫ
История повторяемости в токсикологических испытаниях: от Рассела и Берча до XXI века.
ИНФОРМАЦИОННЫЕ СЕССИИ
Управление в науке: умение и стили.
Определение новейших биомаркеров при повреждении почек, вызванных лекарственными препаратами, у крыс, собак, нечеловекообразных приматов и людей.
Понимание последствий вскармливания грудным молоком детей при воздействии СОЗ.
СЕССИИ ПО РАЗВИТИЮ КАРЬЕРНОГО ПРОДВИЖЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОБРАЗОВАНИЯ
Научная этика в исследованиях и публикациях.
Роль консультантов в науке и практике оценки безопасности.
Тренинги и постоянное повышение квалификации для «полных токсикологов». Как мы оптимизируем тренинги и возможности для обучения для различных областей работы?
РЕГИОНАЛЬНЫЕ СЕССИИ
Оценка воздействия и влияние на здоровье пыли в условиях засушливого юго-запада США.
СТЕНДОВЫЕ СЕССИИ
Биомаркеры, клиническая и трансляционная токсикология, воспаления при заболевании.
Здоровье детей и токсикология в юношеском возрасте.
Оценка риска.
Эпидемиология.
Нейротоксичность металлов-марганца, MeHg и других.
Новые научные достижения в нейродегенеративных заболеваниях.
СОЗ.
Воздействие пестицидов, токсикология и оценка риска.
Химическое и биологическое оружие.
Внутриутробная токсичность: пестициды, питание и лекарства.
Воспаления: методы и механизмы.
Почки.
Нейротоксичность: пестициды.
Сердечно-сосудистая токсичность и гемодинамика: подход ин витро.
Биология стволовых клеток и токсикология.
В рамках съезда были проведены круглый стол и стендовая сессия для национальных токсикологических обществ с участием руководителей SOT, IUTOX, EUROTOX. На круглом столе обсуждались вопросы укрепления взаимодействия токсикологов мира в решении актуальных проблем токсикологии, подготовки специалистов – токсикологов, возможности создания международных образовательных стандартов.
Все дни проведения 53-го ежегодного съезда Американского токсикологического общества работал международный рынок вакансий специалистов-токсикологов, а также выставка токсикологических услуг, литературы, оборудования, информационных технологий, в том числе для осуществления исследований в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики.

Х.Х. Хамидулина, А.А. Виноградова (ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора
05.05.2014 г.

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

КУРЛЯНДСКИЙ БОРИС АРОНОВИЧ

(к 85-летию со дня рождения)

2 июня 2014 г. исполняется 85 лет со дня рождения, 70 лет трудовой, 60 лет научно-практической и организаторской деятельности видному отечественному ученому-токсикологу и организатору здравоохранения, члену-корреспонденту РАМН/РАН, профессору, доктору медицинских наук Борису Ароновичу Курляндскому.

Трудовую деятельность Б.А. Курляндский начал в феврале 1943 г. в должности электрика на оборонном предприятии № 691 в г. Москве. В июне 1944 г. принимал участие в борьбе с бандитизмом. После продолжения учебы и окончания в 1953 г. санитарно-гигиенического факультета 1-го Московского ордена Ленина медицинского института работает в должности главного врача (начальника) СЭС-2, а затем ДорСЭС Карагандинской железной дороги в г. Акмолинске (Казахская ССР), активно участвуя в санитарно-эпидемиологическом обеспечении первых лет освоения целинных и залежных земель Казахстана. С 1957 по 1960 г. проходит аспирантуру при кафедре промышленной гигиены ЦИУ(в), по окончании которой работает до 1962 г. младшим научным сотрудником НИИ гигиены детей и подростков АМН СССР. Поскольку руководство института не поддержало предложения Б.А. Курляндского о создании нового научного направления «подростковая токсикология», перешел на работу в санитарную службу г. Москвы, возглавив создание и работу первой в системе государственного санитарного надзора токсикологической лаборатории МосгорСЭС, ставшей в дальнейшем инициатором и примером создания аналогичных лабораторий в системе Госсанэпиднадзора.

В 1978 г. Б.А. Курляндский избран заведующим созданной при его участии лабораторией 7-3 (гигиены и токсикологии) МНПО «НИОПИК», где проработал 14 лет, а с 1992 г. по 2 июня 2009 г. – директор ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора. Борис Аронович возглавил, впервые в России, разработку методологии и осуществление в госсанэпиднадзоре России государственной регистрации потенциально опасных химических и биологических веществ.

Кандидатскую диссертацию Б.А. Курляндский защитил в 1962 г., докторскую – в 1971 г. В 1987 г. ему присвоено ученое звание профессора, в 2004 г. он избран членом-корреспондентом РАМН по специальности «санитарная токсикология». В связи с объединением трех академий – член-корреспондент РАН.

Наряду с активной организаторской деятельностью Б.А. Курляндский внес большой вклад в развитие отечественной токсикологии. Основные исследования ученого посвящены теоретическим и прикладным проблемам общей и профилактической токсикологии. Круг научных интересов Б.А. Курляндского широк и разнообразен. Им детально разработана концепция смены фаз реактивности организма при длительном воздействии химических веществ. Впервые разработана экспериментальная модель индуцирования злокачественных новообразований на фоне измененной реактивности организма, показана зависимость скорости и частоты возникновения злокачественных новообразований различной природы, индуцированных в различные фазы предшествующей интоксикации. Под руководством и при участии Б.А. Курляндского проведены исследования влияния токсикантов на энергетические процессы в клетке и использования этих реакций для регламентирования токсикантов, проведено изучение действия веществ на обмен нуклеиновых кислот, катехоламинов, выявлена зависимость токсических свойств гетероциклических углеводородов от их изомерии. Б.А. Курляндскому принадлежат фундаментальные и прикладные исследования по токсикологии органических красителей и полупродуктов, электронных и фоторезистов, что позволило впервые в гигиенической практике перейти от их индивидуального к групповому регламентированию, основанному на общности механизмов токсического действия и патогенеза интоксикации. Под руководством и при участии Б.А. Курляндского выполнен ряд исследований, позволивших на основе корреляционного анализа разработать подходы к оптимизации регламентирования токсикантов в окружающей среде

Большое место в исследованиях Б.А. Курляндского уделено изучению канцерогенных свойств веществ и количественной оценке канцерогенной опасности, в том числе таких соединений, как бензидин, дианизидин, винилхлорид и

др. Им впервые была разработана количественная классификация опасности химических канцерогенов и предложена оригинальная методика их гигиенического регламентирования. Он член Комиссии по канцерогенным веществам Роспотребнадзора.

Под руководством и при участии Б.А. Курляндского была разработана и внедрена в химической промышленности отраслевая информационно-поисковая система «Токсикология АКП», отмеченная в 1987 г. Золотой медалью ВДНХ СССР.

С 1992 г. основные исследования Б.А. Курляндского направлены на научное обоснование и создание в России системы Государственной регистрации потенциально опасных химических и биологических веществ. Под его руководством и при участии создана Автоматизированная распределенная информационно-поисковая система (АРИПС), обеспечивающая информацией об опасных веществах органы здравоохранения, Роспотребнадзора и другие заинтересованные организации. Проведенные исследования позволили впервые провести обобщенный прогноз потенциальной опасности химических веществ на территории России в зависимости от их производства и обращения.

Б.А. Курляндский автор 462 работ, в том числе 3 монографий, фундаментального руководства «Общая токсикология», учебника, 2 многотомных справочников, авторского свидетельства.

Под руководством и при консультативном участии Б.А. Курляндского выполнено и защищено 13 кандидатских и 4 докторских диссертации. В течении 12 лет он состоял членом Экспертного совета ВАК РФ.

Им создана научная школа, отличительной особенностью которой является сочетание глубоких теоретических исследований с практической направленностью.

Б.А. Курляндский является инициатором создания в 1993 г. и бессменным главным редактором журнала «Токсикологический вестник». Многие годы он возглавлял правление Всероссийской общественной организации токсикологов (Российское токсикологическое общество).

Значительное место в работе Б.А. Курляндского занимает международная деятельность. На протяжении 15 лет он представлял Российскую Федерацию на заседаниях Межправительственных переговорных комитетов по созданию Стокгольмской и Роттердамской конвенций. С 1998 г. он член Постоянного комитета, а с 2002-го по 2005 г. – избранный вице-президент V Межправительственного форума по химической безопасности от региона стран Центральной и Восточной Европы. В течение 5 лет Б.А. Курляндский являлся членом Комитета по химическим веществам Роттердамской конвенции. Трижды он возглавлял делегацию Российской Федерации на заседаниях Комитета ЮНЕП-ФАО-ВОЗ по разработке международной стратегии химической безопасности.

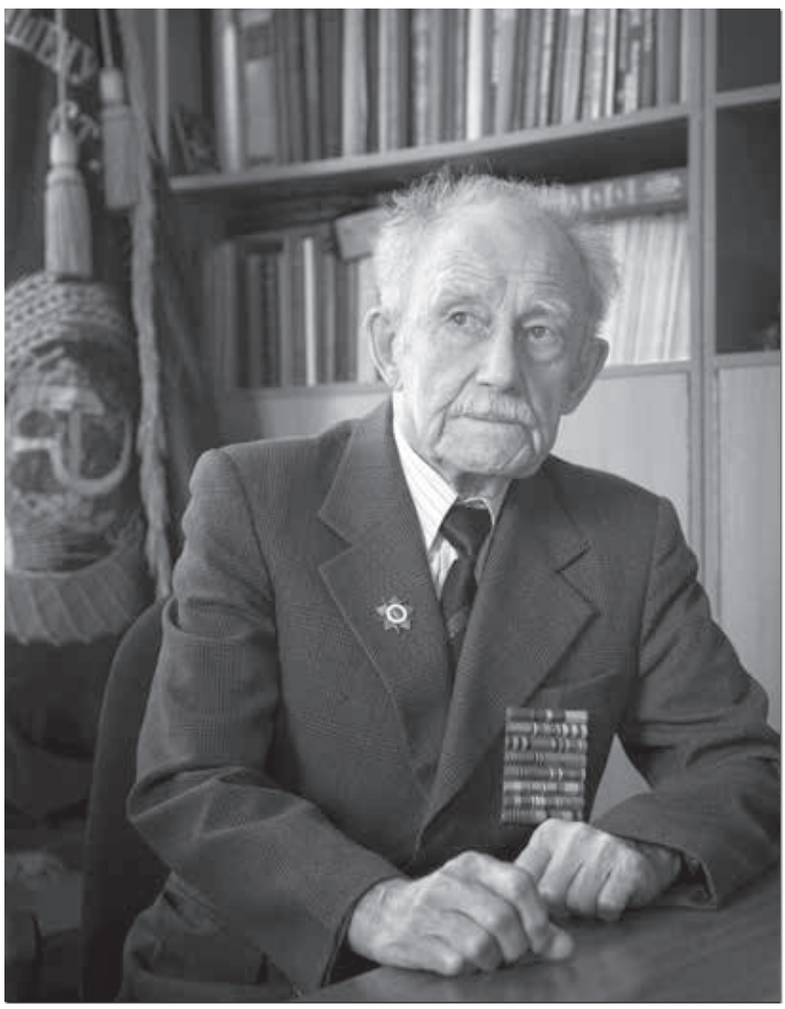
Б.А. Курляндский – ветеран ВОВ, ветеран труда, награжден орденом СССР «Знак почета» и «Орденом дружбы» России, медалью «За доблестный труд в Великой Отечественной войне», а также шестью медалями СССР и России, значком «Отличнику здравоохранения», памятной медалью «90 лет госсанэпидслужбы России», серебряной медалью РАЕН. Отмечен золотой медалью ВДНХ СССР.

От всей души поздравляем Бориса Ароновича с юбилеем! Желаем доброго здоровья, благополучия, долгих и счастливых лет жизни.

Министерство здравоохранения РФ,
Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Российская академия наук
Всероссийская общественная организация токсикологов
Редакционная коллегия журнала «Токсикологический вестник»
ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора
Ученики, друзья и коллеги

СПАССКИЙ СЕРГЕЙ СЕРГЕЕВИЧ

(к 90-летию со дня рождения)



12 июня 2014 года исполняется 90 лет Сергею Сергеевичу Спасскому, доктору медицинских наук, профессору кафедры экологии человека и гигиены окружающей среды медико-профилактического факультета Первого московского медицинского университета им. И.М. Сеченова, Участнику Великой Отечественной войны.

В 1941–1946 гг. Сергей Сергеевич Спасский служил в Красной Армии, участвовал в сражениях под Москвой, на Курской дуге, в форсировании Днепра. Был трижды тяжело ранен.

Сергей Сергеевич Спасский награжден орденом Отечественной войны II степени, орденом Красной звезды и боевыми медалями.

После демобилизации, в 1946 году, он поступил на санитарно-гигиенический факультет 1-го Московского ордена Ленина медицинского института, который окончил в 1952 году. В 1955 году окончил очную аспирантуру кафедры коммунальной гигиены 1МОЛМИ, затем работал ассистентом (1955–1961), доцентом (1961–1982) кафедры коммунальной гигиены, профессором (1982–1986) и заведующим кафедрой гигиены труда 1ММИ (1986–1987), являлся заместителем декана санитарно-гигиенического факультета (1964–1969).

Научные труды С.С. Спасского посвящены гигиеническому нормированию химических веществ в водной среде и воздухе рабочей зоны, проблемам профилактической токсикологии.

Сергей Сергеевич уделяет много времени учебно-методической работе. Он соавтор учебника и руководства к практическим занятиям по гигиене труда, ряда программ и учебно-методических пособий для подготовки и самоподготовки студентов.

Во все периоды работы в стенах университета С.С. Спасский принимал активное участие в общественной жизни коллектива (член Ученого Совета лечебно-профилактического факультета, член парткома института, ответственный редактор газеты «За медицинские кадры» и др.).

Глубокий уровень профессионализма и обостренное чувство справедливости позволяло ему решать многие вопросы научной, практической и общественной деятельности с позиции высокой нравственности и принципиальности.

Сергей Сергеевич обладает незаурядным литературным талантом. Его стихи неоднократно публиковались в институтской газете.

Сергей Сергеевич Спасский пользуется большим уважением и авторитетом среди научных работников страны, сотрудников и студентов университета.

Сердечно поздравляем Сергей Сергеевича со славным юбилеем! Желаем крепкого здоровья, неиссякаемой энергии и творческого долголетия.

Всероссийская общественная организация токсикологов
Редакционная коллегия журнала «Токсикологический вестник»
Сотрудники медико-профилактического факультета Первого московского медицинского университета им. И.М. Сеченова
Друзья и коллеги