

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



Научно-практический журнал

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

№2 (131), 2015

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Е.А. Лужников, Ю.С. Гольдфарб, С.А. Кабанова, В.А. Маткевич, Ю.Н. Остапенко, П.М. Богопольский
НОРМАТИВНО-ПРАВОВАЯ БАЗА ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ ИСКУССТВЕННОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ..... 2

Д.А. Халютин, А.А. Ховпачев, А.Н. Гребенюк, В.Л. Рейнюк, А.Е. Антушевич, А.А. Колобов
ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НОВЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРА МОЛИКСАН ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ ЭТАНОЛОМ 10

Р.И. Якубовская, А.А. Панкратов, Т.Н. Андреева, Ю.Б. Венедиктова, О.А. Безбородова, И.Л. Тутыхина, Е.В. Евграфов, Д.Ю. Логунов, М.М. Шмаров
ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОБЩЕТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА АДЕЛАКТ™ НА ГРЫЗУНАХ..... 18

Л.П. Коваленко, А.В. Таллерова, О.С. Кузнецова, А.С. Лапицкая
ОЦЕНКА АЛЛЕРГЕННОСТИ И ИММУНОТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА СТОДАЛЬ..... 26

О.Н. Басалай, Е.Ч. Михальчук, М.И. Бушма, С.М. Зиматкин
КОРРЕКЦИЯ КОМБИНАЦИЕЙ ТАУРИНА С ЦИНКА ДИАСПАРТАТОМ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРЫ ПОЧЕК У КРЫС С СУЛЕМОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ1 31

Р.С. Бегунов, А.А. Соколов, Т.В. Шебунина, С.А. Калина, А.А. Башкирова
ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО И ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА НОВЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ ПИРИДО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛОВ С ПОМОЩЬЮ ALLIUM ТЕСТА..... 35

А.И. Смолягин, И.В. Михайлова, Е.В. Ермолина, А.А. Стадников, В.М. Боев
ВЛИЯНИЕ БИХРОМАТА КАЛИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРЫС ВИСТАР..... 40

□ Экологическая токсикология

А.С. Федотов
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА BARAKOR 100 ДЛЯ ГИДРОБИОНТОВ..... 45

□ Юбилейные даты

Рембовский Владимир Романович..... 49

БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

□ Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ 51

М.А. Пинигин, Л.А. Федотова, А.В. Цуканов
ОБОСНОВАНИЕ НЕЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ГИГИЕНИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ МЕТАНА В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ..... 51

Н.И. Шеина, Э.Г. Скрыбина, Л.И. Мялина, Е.В. Буданова, Л.П. Сазонова, В.В. Колесникова, Г.Г. Чуб
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕБЕНИНА, АКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ ЛИНЕКСА 57

□ Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам..... 60

E.A. Luzhnikov, Yu.S. Goldfarb, S.A. Kabanova, V.A. Matkevich, Yu. N. Ostapenko, P.M. Bogopolskiy
REGULATORY AND LEGAL FRAMEWORK OF USING ARTIFICIAL DETOXIFICATION METHODS IN ACUTE POISONING OF CHEMICAL ETIOLOGY 2

D.A. Halyutin, A.A. Hovpachev, A.N. Grebenyuk, V.L. Reynyuk, A.E. Antushevich, A.A. Kolobov
THERAPEUTIC EFFICACY OF NEW NEUROPEPTIDES AND HEPATOPROTECTOR MOLIXAN AT ACUTE POISONINGS WITH ETHANOL 10

R.I. Yakubovskaya, A.A. Pankratov, T.N. Andreeva, J.B. Venediktova, O.A. Bezborodova, I.L. Tutykhina, E.V. Evgrafov, D.Yu. Logunov, M.M. Shmarov
PRECLINICAL STUDY OF GENERAL TOXICITY OF ADELACT™ IN RODENT MODELS 18

L.P. Kovalenko, A.V. Tallerova, O.S. Kuznetsova, A.S. Lapitskaya
EXPERIMENTAL STUDY OF ALLERGENIC PROPERTIES AND IMMUNOTOXICITY OF THE DRUG STODAL 26

O.N. Basalai, E.Ch. Mikhalchuk, M.I. Bushma, S.M. Zimatkin
CORRECTION OF THE KIDNEYS STRUCTURE DISTURBANCES IN RATS WITH SUBLIMATE NEPHROPATHY USING A COMBINATION OF TAURIN WITH ZINC DIASPARTATE..... 31

R.S. Begunov, A.A. Sokolov, T.V. Shebunina, S.A. Kalina, A.A. Bashkirova
EVALUATION OF CYTOTOXICITY AND GENOTOXICITY OF NEW SUBSTITUTED PIRYDO [1,2-A] BENZIMIDAZOLES USING THE ALLIUM TEST 35

A.I. Smolyagin, I.V. Mikhaylova, E.V. Ermolina, A.A. Stadnikov, V.M. Boev
INFLUENCE OF POTASSIUM BICHROMATE ON MORPHOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF WISTAR RATS 40

□ Ecotoxicology

A.S. Fedotov
TOXICITY ASSESSMENT OF THE SUBSTANCE BARAKOR 100 TO HYDROBIONTS..... 45

□ Anniversaries

Rembovskii Vladimir Romanovich 49

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

□ News on toxicity and hazard of chemical and biological substances 51

M.A. Pinigin, L.A. Fedotova, A.V. Tsukanov
JUSTIFICATION OF INEXPEDIENCY OF METHANE HYGIENIC REGULATION IN ATMOSPHERIC AIR..... 51

N.I. Sheina, J.G. Skryabina, L.I. Myalina, E.V. Budanova, L.P. Sazonova, V.V. Kolesnikova, G.G. Chub
SAFETY TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF LEBENIN, ACTIVE SUBSTANCE OF LINEX 57

□ New publications on toxicology and related disciplines..... 60

УДК 9.61.615.9:616.099-082

НОРМАТИВНО-ПРАВОВАЯ БАЗА ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ ИСКУССТВЕННОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ

Е.А. Лужников^{1,2}, Ю.С. Гольдфарб^{1,2},
С.А. Кабанова¹, В.А. Маткевич¹,
Ю.Н. Остапенко^{1,2}, П.М. Богопольский¹

¹ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы, 129090, г. Москва, Российская Федерация

²ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» МЗ РФ, 123242, г. Москва, Российская Федерация

Синхронный анализ содержания научных источников и нормативно-правовых документов за 1970–2012 гг., касающихся комплексного применения методов искусственной детоксикации (МИД) (операции замещения крови и сорбционно-диализной детоксикации) при острых отравлениях (ОО), показал тесную временную взаимосвязь между внедрением МИД в токсикологическом отделении НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, других токсикологических центрах (отделениях) РФ и появлением нормативно-правовых документов, обязывающих их проведение в соответствии с показаниями, основанными на клинических и лабораторных данных. Деятельность токсикологического отделения НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, не имеющая аналогов по своему объему и спектру, дает основание считать его ведущей научной и методической базой для разработки нормативно-правовых документов, регламентирующих использование методов искусственной детоксикации в рамках токсикологической службы России. Отмечено, что задержки внедрения комплексной детоксикации при обсуждаемой патологии на нормативно-правовом уровне влекут за собой невозможность оказания требуемого объема наиболее эффективной специализированной медицинской помощи.

Ключевые слова: острые отравления, лечение, искусственная детоксикация, нормативно-правовая база.

Введение. Методы искусственной детоксикации (МИД), которые включают операцию замещения крови, гемо- и перитонеальный диализ, а также сорбционную детоксикацию, предназначены для немедикаментозного замещения утраченных или значительно ослабленных детоксикационных функций организма путем их моделирования и усиления с помо-

щью технических средств. На основе МИД осуществляется так называемый *бионический* подход к детоксикации. Указанные методы относятся к эфферентным – служащим для выведения из организма токсикантов различной природы [1]. Впервые МИД были предложены для лечения *эндотоксикозов*, вызванных уремией, острой печеночной недостаточностью

Лужников Евгений Алексеевич (Luzhnikov Evgeniy Alekseevich), доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, главный 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», заведующий кафедрой клинической токсикологии Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования», г. Москва, rtiac@mail.ru

Гольдфарб Юрий Семенович (Goldfarb Yuriy Semenovich), доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом внешних научных связей Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», профессор кафедры клинической токсикологии Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования», г. Москва, goldfarb@mail.ru

Кабанова Светлана Александровна (Kabanova Svetlana Aleksandrovna), доктор медицинских наук, заместитель директора по научно-организационной работе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», kabanova@mail.ru

Маткевич Виктор Анатольевич (Matkevich Victor Anatolievich), доктор медицинских наук, 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», г. Москва, matkevich@mail.ru

Остапенко Юрий Николаевич (Ostapenko Yuriy Nikolaevich), кандидат медицинских наук, доцент, директор ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России», 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», доцент кафедры клинической токсикологии Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования», г. Москва, rtiac@mail.ru

Богопольский Павел Майорович (Bogopolskiy Pavel Mayorovich), доктор медицинских наук, главный специалист отдела внешних научных связей Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, bogopolsky_med@mail.ru

и другими заболеваниями [2–8], а затем они стали активно использоваться в практике лечения острых отравлений (ОО) [9,10].

Со второй половины XX века в различных областях медицины нашло активное применение воздействие на кровь физическими (лазерное и ультрафиолетовое облучение) и химическими (гипохлорит натрия, озон) факторами. Таким путем добивались коррекции показателей гомеостаза и эндотоксикоза при различных острых и хронических заболеваниях, что нередко заметно улучшало их течение [11–16].

Отметив при лечении ОО положительные эффекты указанных методов, названных нами физико-химической гемотерапией (ФХГТ) [17,18], мы установили, что их использование в комплексной детоксикации при ОО наряду с МИД (в первую очередь, гемосорбцией), при выраженной интоксикации позволяет существенно (в 2–12 раз) ускорить очищение организма от экзо- и эндогенных токсикантов. Результатом явилось значительное, 2,5-кратное снижение летальности в отделении реанимации и интенсивной терапии острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского (далее – НИИ СП им. Н.В. Склифосовского) [18] (табл.).

Ранее нами были опубликованы данные [19], связанные с общими положениями нормативно-правовой базы клинической токсикологии. Однако как ограниченное применение, так и широкое внедрение МИД и других методов ускоренной детоксикации потребовали включения в нормативно-правовые документы специальных разделов [20].

Целью работы является поиск взаимосвязи между процессом внедрения МИД для лечения ОО и формированием соответствующей нормативно-правовой базы.

Материал и методы исследования. Синхронный анализ содержания доступных научных источников и нормативно-правовых документов, касающихся применения МИД при ОО за 1970–2012 гг., в том числе в комплексе с кишечным лаважем (КЛ) и ФХГТ – магнитной гемотерапией, предложенной нами [21,22], ультрафиолетовой, лазерной гемотерапией, а также химиотерапией гипохлоритом натрия и озоном.

Результаты и обсуждение. Вначале нами был проанализирован научные источники, послужившие основой для создания нормативно-правовой базы МИД.

Среди них наиболее показательны материалы 1-й Всероссийской конференции по клинической токсикологии (1968), опубликованные в 1970 г., а также I–IV съездов токсикологов России, международных конференций «Ак-

туальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии», конференций Московского городского общества гемафереза, работы монографического, диссертационного, справочного характера, статьи, авторские свидетельства и патенты на изобретения и др.

Особое значение имели итоги 1-й Всероссийской конференции по клинической токсикологии (ноябрь 1968 г.), которой предшествовали Пленум Ученого медицинского совета МЗ РСФСР «Основные вопросы клинической токсикологии» и Коллегия МЗ РСФСР «О состоянии и мерах по дальнейшему развитию токсикологической службы», состоявшиеся в апреле 1968 г. Конференция была приурочена к 5-летию образования (1963) на базе НИИ СП им. Н.В. Склифосовского первого в стране токсикологического отделения¹ и состоялась в этом институте. Создание такого отделения в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского было закономерным, учитывая характер деятельности института, большое количество пациентов с ОО, необходимость решения вопросов, связанных с диагностикой и лечением ОО, а также высокую квалификацию научного и практического персонала, техническую сложность и достаточно высокую стоимость МИД. Кроме того, в состав отделения была включена химико-токсикологическая лаборатория, что позволяло объективно оценивать эффективность МИД. Перспективность же применения МИД на 1-й Всероссийской конференции отмечалась особо [9,23–25].

В резолюции конференции, направленной в адрес МЗ РСФСР и МЗ СССР, среди наиболее важных научных проблем клинической токсикологии была выделена «дальнейшая разработка средств и способов выведения из организма токсических химических веществ в ранний период заболевания, ... (различные методы форсированного диуреза, экстракорпорального диализа и др.)». Рекомендация конференции о необходимости «организовать систему оказания специализированной медицинской помощи при острых химических заболеваниях» послужила также появлению решения Коллегии МЗ СССР от 10 апреля 1969 г. «О состоянии и мерах по дальнейшему укреплению токсикологической службы» и выходу в свет приказа «О мерах по дальнейшему укреплению токсикологической службы органов здравоохранения Российской Федерации»,² в которых утвержде-

¹ в разные годы в зависимости от структуры, штатного расписания и объема выполняемых функций отделение имело статус городского, республиканского и всесоюзного центра

² приказ МЗ РСФСР № 70 от 26.03.1970

**Развитие стандартов комплексной детоксикации
в Московском городском центре лечения острых отравлений**

Период времени	Динамика состава комплексной детоксикации	Летальность в токсикореанимационном отделении, %
1960 – 1970 гг.	ФД, ОЗК, ГД, ПД	14,5
1980 – 1990 гг.	ФД, ГД, ПД, ГС, КЛ	12,1
1990 – 2000 гг.	ФД, ГД, ГС, КЛ, ФГТ, ХГТ	5,8

Примечания: ГД – гемодиализ, ГС – гемосорбция, КЛ – кишечный лаваж, ОЗК – операция замещения крови, ПД – перитонеальный диализ, ФД – форсированный диурез, ФГТ – физиогемотерапия, ХГТ – химиогемотерапия

но положение о Республиканском центре по лечению отравлений. Он был создан на клинической базе НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, и его функцией в том числе являлась подготовка документов, направленных на дальнейшее развитие токсикологической службы в России. Руководителем центра был назначен Е.А. Лужников, в то время доцент функционирующей на базе института кафедры госпитальной терапии 1-го Московского медицинского института им. И.М. Сеченова, на которой под кураторством проф. П.Л. Сухинина была начата активная работа по изучению ОО; Е.А. Лужников также исполнял обязанности заведующего токсикологическим отделением института. С 1972 г. Е.А. Лужников являлся главным терапевтом-токсикологом МЗ РСФСР, а затем и страны, оставаясь на этом посту в течение 30 лет.¹ Это сыграло важную роль в ускорении создания нормативно-правовой базы МИД.

Результаты 1-й Всероссийской конференции по клинической токсикологии дали мощный импульс научному поиску; в итоге сотрудниками токсикологического отделения НИИ СП им. Н.В. Склифосовского были выполнены более 10 приоритетных диссертационных исследований, результаты которых защищены авторскими свидетельствами и патентами. В них детально отражен детоксикационный подход к лечению ОО с помощью операции замещения крови, сорбционно-диализной и физико-химической гемотерапии, повышения их эффективности за счет устранения кишечного депо токсинов путем КЛ и комплексного использования указанных методов [26–36].

¹одновременно с 1972 до конца 2014 г. акад.

РАН Е. А. Лужников возглавлял научное отделение лечения острых отравлений НИИ СП им. Н.В. Склифосовского; в настоящее время главный токсиколог МЗ РФ и ДЗ г. Москвы – доц. Ю.Н. Остапенко, директор ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России»

К наиболее информативным научным публикациям, включающим сведения о детоксикационной терапии, относятся также издания крупного формата – монографии, справочники, руководства и т.п. За указанный период появилось около 50 таких книг [10, 37–41 и др.), а итогом многолетней работы специалистов наиболее крупных токсикологических центров страны – Москвы, Санкт-Петербурга и Екатеринбурга – стало Национальное руководство «Медицинская токсикология» (2012) [42] под редакцией академика РАМН Е. А. Лужникова. Это руководство в том числе содержит современные стандарты детоксикационной терапии, принципиально изменившиеся за счет комплексирования сорбционно-диализных МИД с КЛ и ФХГТ и ограничения использования менее эффективной и не лишенной существенного риска операции замещения крови (табл.).

Научные идеи, явствующие из первых работ по детоксикационной терапии, были восприняты токсикологическим сообществом и получили свое развитие более чем в 40 диссертационных исследованиях [43–52 и др.], выполненных в Московских (НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, детском – ДКБ № 13 им. Н.Ф. Филатова) и других токсикологических центрах страны (Санкт-Петербург, Екатеринбург, Воронеж, Кемерово, Нижний Новгород) и включающих вопросы применения МИД при ОО.

Следующий вид источников, являющихся переходными к созданию нормативно-правовых документов, – методические рекомендации, указания и информационные письма МЗ РСФСР, МЗ СССР, МЗ РФ и местных органов здравоохранения (около 20 изданий). Методические материалы, обобщенные в этих документах, послужили основанием для разработки приказов, юридически упорядочивающих применение МИД.

Первые такие работы, непосредственно посвященные клиническим и организационным

аспектам МИД, подготовлены в токсикологическом отделении НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Среди них – «Неотложная помощь при острых отравлениях» и «Организация специализированной помощи при острых отравлениях» [53,54], где в специальных разделах представлены показания к операции замещения крови, гемо-, перитонеальному диализу и гемосорбции при актуальных в то время видах ОО. Методологическими вопросам МИД целиком посвящено также вышедшее позже издание «Применение методов искусственной детоксикации при острых отравлениях» [55].

В числе других важных материалов – информационное письмо «Организация стационарной медицинской помощи при острых отравлениях химической этиологии»,¹ многие годы используемое токсикологическими центрами (отделениями) страны. В нем приводятся данные, из которых видно, что при некоторых ОО нуждаемость пациентов в МИД намного превышает 50%. Кроме того, в этом письме рекомендовано ввести в штат палат реанимации и интенсивной терапии врачебный и сестринский персонал, в том числе круглосуточный пост медсестры, для проведения активных методов детоксикации. Методические рекомендации «Сочетанное применение кишечного лаважа и энтеросорбции при острых пероральных отравлениях» и «Применение физио- и химиогемотерапии при острых отравлениях» [56,57] довершают характеристику комплексных детоксикационных мероприятий при ОО.

Были также изданы работы рекомендательного плана, касающиеся применения МИД при различных формах ОО [58–61 и др.].

В качестве иллюстрации изменения точки зрения на использование комплексной детоксикации демонстративны методические указания «Организация работы центров (отделений) острых отравлений по внедрению современных лечебно-диагностических и информационных технологий» [62], подготовленные в Информационно-консультативном токсикологическом центре МЗ РФ (ИКТЦ) (ныне ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России»), сформировавшемся в самостоятельное учреждение благодаря инициативе сотрудников Московского токсикологического центра [63,64].² Согласно этому документу, современные медицинские технологии, составляющие основу лечебного процесса в клинической токсикологии, «предусматривают использование, прежде всего,

ускоренной детоксикации организма с помощью диализных, сорбционных методов и воздействия на кровь (физио- и химиогемотерапия); в этом документе также приводятся рекомендации, касающиеся технического оснащения малой операционной соответствующим оборудованием, включая комплект для КЛ.

В целом, анализ упомянутых выше источников за указанный период показал, что по обсуждаемому вопросу временным приоритетом и систематизированными данными о показаниях к применению МИД и ФХГТ, их технике и оценке результатов их использования наиболее важными являются работы, подготовленные в токсикологическом отделении НИИ СП им. Н.В. Склифосовского [9,10,23, 26–37, 39,53–58]. Эти работы также были востребованы для включения в соответствующие разделы в изданиях по смежным медицинским специальностям [65–67].

Поэтому материалы, послужившие основой для нормативно-правовых документов, регламентирующих применение МИД, изначально базировались на результатах деятельности токсикологического отделения НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Собственно нормативно-правовые (директивные) документы – приказы МЗ СССР, МЗ РСФСР и Минздрава России. Среди них основополагающее значение имеет приказ «Об улучшении стационарной специализированной помощи при острых отравлениях»³, подписанный министром здравоохранения СССР акад. Б.В. Петровским, которым впервые устанавливались критерии для организации центров (отделений) лечения ОО в административных центрах страны и определялась их структура. В данном приказе особо упоминается опыт Московского токсикологического центра, в котором «разработан и внедрен комплексный метод лечения острых отравлений, включающий активную хирургическую детоксикацию (гемодиализ, перитонеальный диализ, гемосорбция с помощью активированных углей и др.); этим же приказом предписано в структуре отделений для больных с ОО иметь операционные для выполнения различных видов диализа.

В развитие этого приказа был издан следующий – «О мероприятиях по совершенствованию специализированной медицинской помощи при острых отравлениях»⁴, обязывающий министров здравоохранения союзных и автономных республик, руководителей органов

¹ информационное письмо МЗ СССР № 04-6/64-6 от 27.03.90

²приказ МЗ РФ № 319 от 07.12.1992

³приказ МЗ СССР № 475 от 06.05.1980

⁴приказ МЗ СССР № 1527 от 20.11.1986

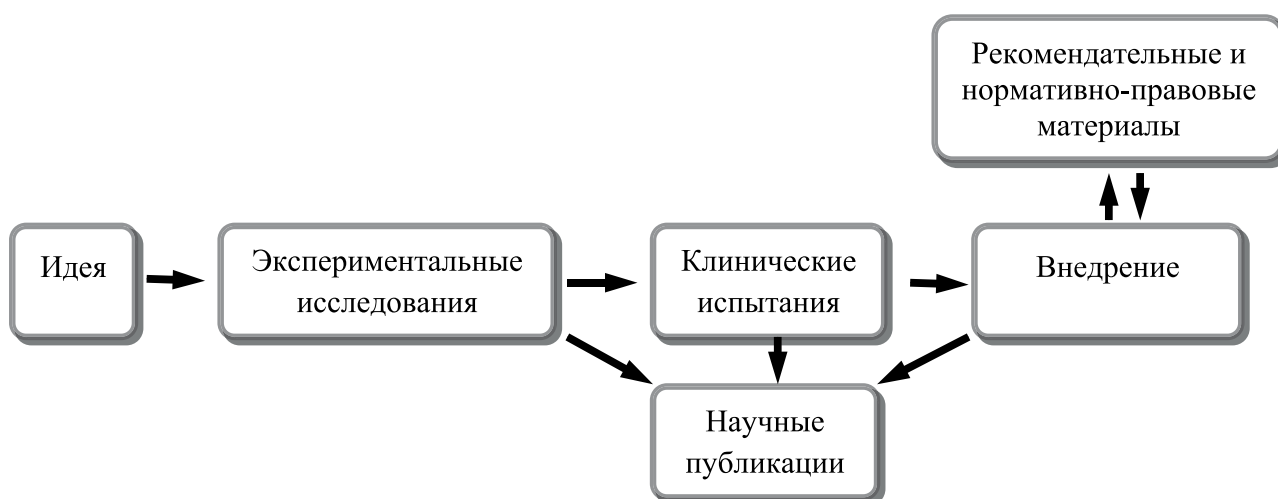


Рис. Источники формирования нормативно-правовой базы новых медицинских технологий

и учреждений здравоохранения «принять необходимые меры к использованию отделений по применению аппарата «Искусственная почка» для проведения искусственной детоксикации при острых отравлениях». Приказ в значительной мере способствовал внедрению МИД в практику лечения ОО, так как предусматривал создание токсикологических отделений на базе многопрофильных больниц, имеющих подразделения, где МИД использовались при заболеваниях, не относящихся к ОО.

Итоги внедрения МИД для лечения ОО подведены в приказе «О мерах по совершенствованию организации токсикологической помощи населению Российской Федерации»¹, в котором отмечено, что «проведены научные исследования в области клинической токсикологии, в результате которых разработаны и внедрены современные методы активной детоксикации...». Это позволило ставить задачи оказания медицинской помощи при ОО на новом организационном уровне, включая в состав токсикологического центра (отделения) отделения (палаты) реанимации и интенсивной терапии с малой операционной для экстренной детоксикации и выделяя для этого отдельные должности врача-токсиколога, среднего медработника и медлаборанта для проведения искусственной детоксикации.

И, наконец, МИД официально вошли в состав мероприятий по оказанию медицинской помощи при ОО как ее неотъемлемая часть, что закреплено приказом «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями»², в котором, в частности, сказано, что «при необходимости оказания медицинской помощи

с обязательным использованием методов экстракорпоральной детоксикации (гемодиализ, гемосорбция и другое) по решению консилиума врачей с участием врача-токсиколога центра (отделения) острых отравлений и при отсутствии медицинских противопоказаний для транспортировки больные с острыми химическими отравлениями переводятся в центр (отделение) острых отравлений медицинской организации. В этом же приказе приведены стандарты оснащения токсикологических отделений, в том числе и оборудованием для выполнения МИД, ФХГТ и КЛ.

Заключение. Результаты исследования со всей очевидностью указывают на то, что точка зрения на использование МИД, содержащаяся в нормативно-правовых документах за указанный более чем 40-летний период, значительно эволюционировала – от констатирующей или рекомендующей их использование до обязывающей их проведение в соответствии с показаниями, основанными на клинических и лабораторных данных.

Кроме того, становится ясным, что появление нормативно-правовых документов, касающихся комплексной детоксикации при ОО, хронологически тесно связано с растущим числом и уровнем публикаций научного и методического (рекомендательного) характера, посвященных использованию МИД и ФХГТ. Активная деятельность в этом направлении московских токсикологов позволила им возглавить создание нормативно-правовой базы МИД, а также контролировать их внедрение в масштабах страны.

Важным следствием проделанной работы, по отчетным данным, явилась реализация предложенного детоксикационного подхода, особенно в отношении сорбционно-диализной детоксикации и ультрафиолетовой гемотерапии, более

¹приказ МЗ РФ № 9 от 08.01.2002

²приказ МЗ РФ № 925н от 15.11.2012

чем в 80–90% токсикологических центров, действующих в России (свыше 40) (Санкт-Петербург, Воронеж, Екатеринбург, Ростов-на-Дону, Омск, Кемерово, Хабаровск и др.).

Целесообразно выделить этапы внедрения новых медицинских технологий при ОО и закономерности формирования нормативно-правовой базы МИД (рис.).

Как видно, созданию нормативно-правовых документов естественным образом предшествует накопление научного и клинического опыта. Следует также подчеркнуть, что организационные задержки выхода в свет нормативно-правовых документов влекут за собой отставание во внедрении передовых достижений и, следовательно, невозможность оказания медицинской помощи при ОО на должном уровне.

Выводы. 1. Установлена тесная временная взаимосвязь между развитием научных исследований в области комплексной детоксикации при острых отравлениях, основу которой составляют методы искусственной детоксикации организма, и появлением нормативно-правовых документов, касающихся их применения.

2. Результаты деятельности Московского токсикологического центра НИИ СП им. Н.В. Склифосовского дают основание считать его ведущей научной и методической базой для разработки нормативно-правовых документов, регламентирующих использование методов искусственной детоксикации в рамках токсикологической службы России.

Авторы благодарят профессора К.М. Брусина (Екатеринбург) за информационную поддержку при подготовке статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лопаткин Н. А., Лопухин Ю. М. Эфферентные методы в медицине. М.: Медицина; 1989.
2. Глоzman О. С., Касаткина А. П. Полное замещение и обменное переливание крови. М.: Изд-во АМН СССР; 1950.
3. Tzanck A., Bessis M., Dausset J. Resultats du traitement des nephrites anuriques par les exsanguino-transfusion. Statistique de 95 cas. Bulletins et mémoires de la Société médicale des hôpitaux de Paris. 1950; 66 (23-24): 1125-1130.
4. Kolff W.J. The artificial kidney – past, present, and future. Circulation. 1957; 15 (2): 285-294.
5. Grollman A., Turner L.B., McLean J.A. Intermittent peritoneal lavage in nephrectomized dogs and its application to the human being. Arch. Int. Med. 1951; 87(30): 379-390.
6. Кулаков Г. П., Мендельсон М. М., Горбовицкий Е. Б., Симовский Р. С. О сочетании применения искусственной почки и перитонеального диализа. Клин. мед. 1963; 7: 111-116.
7. Yatzidis H. A convenient haemoperfusion microapparatus over charcoal for the treatment of endogenous intoxications. Its use as an effective artificial kidney. Proc. Europ. Dial. Transplant. Ass. 1964; 1: 83-86.
8. Лопухин Ю. М., Молоденков М. Н., Машков О. А., Морозов Ю. И., Кузнецов В. Н., Ефимов В. С. Экспериментальные исследования и первый клинический опыт применения гемадсорбции при острой печеночной недостаточности. В кн.: Трансплантация эндокринных органов в клинике и эксперименте. Экстракорпоральная гемадсорбция. М.; 1972: 69-81.
9. Сухинин П. Л., Лужников Е. А., Шиманко И. И., Фирсов Н. Н., Ярославский А. А. Оценка различных методов выведения токсических веществ из организма при острых отравлениях. В кн.: Острые отравления: диагностика, клиника и лечение: тр. I-й Всерос. науч.-практ. конф. по клинич. токсикологии. 26-28 нояб. 1968 г. М.; 1970: 243-247.
10. Комаров Б. Д., Лужников Е. А., Шиманко И. И. Хирургические методы лечения острых отравлений. М.: Медгиз; 1981.
11. Wiesner S., Frick G., Hübner W. Erfahrungen mit der Ultravioletbestrahlung des Blutes bei chronischen Erkrankungen // Z. Ärztl. Fortbild. (Jena). 1974; 68 (1): 10-13.
12. Поташов Л. В., Чеминава Р. В. Реинфузия облученной собственной крови хирургических больных. Вестник хирургии. 1980; 10: 144-146.
13. Minton J.P. The laser in Surgery. A 23 year perspective // Am. J. Surg. 1986. 251 (6): 725-729.
14. Гостищев В. К., Шкроб Л. О., Вертьянов В. А. Влияние внутрисосудистого лазерного облучения крови на состояние иммунной системы больных хроническим остеомиелитом. Хирургия. 1991; 9: 98-102.
15. Sergienko V.I., Vasiliev J.B. Electrochemical methods of detoxification for medical use: Soviet Medical Reviews Series, Section B. Harwood: Acad. Publ. GMBH; 1989; 2: 54-57.
16. Федоровский Н. М. Непрямая электрохимическая детоксикация. Анезтиология и реаниматология. 1995; 6: 46-50.
17. Гольдфарб Ю. С. Физико-химические методы гемотерапии при острых экзо- и эндотоксикозах. Анестезиология и реаниматология. 1995; 3: 48-55.
18. Лужников Е. А., Гольдфарб Ю. С. Физиогемотерапия острых отравлений. М.: Медпрактика-М; 2002.
19. Хубутия М. Ш., Лужников Е. А., Таджиев И. Я., Кабанова С. А., Гольдфарб Ю. С. Нормативно-правовое регулирование развития отечественной службы клинической токсикологии. Вестник РАМН. 2013; 11: 66-72.
20. Лужников Е. А., Гольдфарб Ю. С., Кабанова С. А., Остапенко Ю. Н., Таджиев И. Я. Нормативно-правовая база экстракорпоральной детоксикации при острых отравлениях химической этиологии и вклад в ее формирование Московского токсикологического центра НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского. В кн.: Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии: сб. материалов девятой междунар. конф. г. Москва, 22-23 мая 2014 г. М.; 2014: 73-74.
21. Лужников Е. А., Мисуловин Я. И., Гольдфарб Ю. С., Кутушов М. В. Устройство для магнитогемотерапии. Патент РФ № 2012383; 1994.
22. Luzhnikov E.A., Goldfarb Ju.S., Misulovin Ia.I., Firsov N.N., Sirko I.V., Burikina I.A. Magnetic hemotherapy as an effective resuscitation technique for treatment of acute exogenic poisoning // Curr. Toxicol. 1993; 1: 133-139.
23. Сухинин П. Л., Дагаев В. Н., Лужников Е. А. Организация и работа центра по лечению острых отравлений НИИ им. Н.В. Склифосовского. В кн.: Острые отравления: диагностика, клиника и лечение: тр. I-й Всерос. науч.-практ. конф. по клинич. токсикологии. 26-28 нояб. 1968 г. М.; 1970: 11-18.
24. Колосов Е. С. Организация лечения острых отравлений в г. Ленинграде. В кн.: Острые отравления: диагностика, клиника и лечение: тр. I-й Всерос. науч.-практ. конф. по клинич. токсикологии. 26-28 нояб. 1968 г. М.; 1970: 34-37.
25. Глоzman О. С. О работе Республиканского центра по борьбе с острыми токсикозами в Казахской ССР. В кн.: Острые отравления: диагностика, клиника и лечение: тр. I-й Всерос. науч.-практ. конф. по клинич. токсикологии. 26-28 нояб. 1968 г. М.; 1970: 37-39.
26. Глуховская Н. Я. Операция замещения крови при острых экзогенных интоксикациях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1974.
27. Ярославский А. А. Операция раннего гемодиализа при лечении острых отравлений: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1971.
28. Мусселиус С. Г. Операция раннего перитонеального диализа при острых экзогенных отравлениях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1974.
29. Бектимиров Р. А. Гемосорбция при лечении больных с острыми отравлениями препаратами психотропного действия (клинико-экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев; 1979.
30. Почхверия М. М. Применение ультрафиолетового облучения крови в комплексном лечении острых отравлений фосфорорганическими инсектицидами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1987.
31. Кутушов М. В. Применение магнитогемотерапии в комплексном лечении острых отравлений фосфорорганическими инсектицидами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1990.
32. Гольдфарб Ю. С. Экстракорпоральные методы комплексной перфузионной детоксикации при острых отравлениях: Дис. ... д-ра мед. наук в форме науч. докл. М.; 1992.
33. Бадалян А. В. Применение лазерной гемотерапии в комплексном лечении острых экзогенных отравлений: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1998.
34. Мелькоян Ш. Л. Детоксикационный эффект сочетанной физиогемотерапии при острых отравлениях психотропными и снотворными средствами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2000.
35. Маткевич В. А. Кишечный лаваж при острых пероральных отравлениях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1988.
36. Петров С. И. Применение гипохлорита натрия в клинической токсикологии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2005.
37. Лужников Е. А., Дагаев В. Н., Фирсов Н. Н. Основы реаниматологии при острых отравлениях. М.: Медицина; 1977.
38. Лужников Е. А., Сенцов В. Г., Суходолова Г. Н., Меледин В. Ю. Острые отравления амитриптилином. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та; 2000.
39. Лужников Е. А., Гольдфарб Ю. С., Мусселиус С. Г. Детоксикационная терапия: Руководство. СПб.: Лань; 2000.
40. Куценко С. А. Основы токсикологии: научно-методическое издание. СПб: Фолиант; 2004.
41. Бонитенко Е. Ю. Острые отравления лекарственными средствами и наркотическими веществами. СПб: ЭЛБИ-СПб; 2010. Ч. 1.
42. Лужников Е. А., ред. Медицинская токсикология: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
43. Сенцов В. Г. Острые отравления клофелином: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 1995.
44. Батоцаренко Б. В. Патогенетические основы интенсивной терапии неспецифических поражений в ранней фазе острых отравлений нейротропными ядами: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.

СПб.; 2002.

- 45. Брусин К. М.** Токсическое поражение сердца при острых отравлениях химической этиологии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2003.
- 46. Маткевич В. А.** Энтеральная детоксикация организма при острых отравлениях: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2013.
- 47. Тонкопий Д. В.** Элиминационные методы детоксикации при острых отравлениях фосфорорганическими инсектицидами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб.; 1992.
- 48. Нарзикулов Р. А.** Особенности развития и течения эндотоксикоза у больных с острыми тяжелыми отравлениями лекарственными средствами нейротропного действия при использовании эфферентных методов детоксикации: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб.; 2000.
- 49. Новикова О. В.** Оптимизация проведения предоперационной подготовки и гемодиализа у больных с отравлениями фосфорорганическими инсектицидами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Екатеринбург; 2000.
- 50. Маслов О. Г.** Обоснование программы детоксикации в интенсивной терапии острых отравлений карбамазепином: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Екатеринбург; 2012.
- 51. Грибова Н. Г.** Инфузионная озон-

- терапия в комплексном лечении острых отравлений психофармакологическими препаратами (экспериментально-клиническое исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Воронеж; 2010.
- 52. Батурова И. В.** Применение гипохлорита натрия в комплексном лечении острых отравлений этанолом с учетом преморбидного фактора: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2006.
- 53. Лужников Е. А., Ярославский А. А.** Неотложная помощь при острых отравлениях: метод. указания. М.: НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, МЗ РСФСР; 1974.
- 54. Комаров Б. Д., Лужников Е. А., Александровский В. Н., Муромов А. Л.** Организация специализированной помощи при острых отравлениях: метод. рек. М.: МЗ РСФСР; 1975.
- 55. Лужников Е. А., Ярославский А. А., Барсуков Ю. Ф.** Применение методов искусственной детоксикации при острых отравлениях: метод. рек. М.: МЗ РСФСР; 1980.
- 56. Лужников Е. А., Маткевич В. А., Гольдин М. М.** Сочетанное применение кишечного лаважа и энтеросорбции при острых пероральных отравлениях: метод. рек. М.: МЗ РСФСР; 1990.
- 57. Лужников Е. А., Гольдфарб Ю. С., Ильяшенко К. К., Е.В.Ястребова, С.И. Петров, А.Н. Ельков и др.** Применение

- физио- и химиомотерапии при острых отравлениях: метод. рек. М.: Комитет здравоохранения; 1998.
- 58. Лужников Е. А., Муромов А. Л.** Клиника и лечение острых отравлений барбитуратами: метод. рек. М.: МЗ РСФСР; 1975.
- 59. Стерехова Н. П., Савушкин Н. В., Сенцов В. Г., Клебанова В. В., Зайковский В. Н., Мячков А. Я. и др.** Интенсивная терапия тяжелых форм интоксикаций фосфорорганическими ядохимикатами: информ. письмо для врачей области. Свердловск: Полиграфист; 1988.
- 60. Брусин К. М., Сенцов В. Г., Рокин С. Р.** Острые отравления клофелином у взрослых. Клиника, диагностика и лечение: метод. письмо для врачей. Екатеринбург; 2002.
- 61. Бонитенко Е. Ю., Бушуев Е. С., Бычков В. А., Великова В. Д., Горбачева Т. В., Иванова Е. А. и др.** Отравления нестероидными противовоспалительными средствами и ненаркотическими анальгетиками: клиника, диагностика, лечение: пособие. СПб.: Меднига «ЭЛБИ-СПб»; 2012.
- 62. Остапенко Ю. Н., Хонелидзе П. С., Литвинов Н. Н.** Организация работы центров (отделений) острых отравлений по внедрению современных лечебно-диагностических и информацион-

- ных технологий: метод. указания № 2003/57; Гос. договор с МЗ РФ № 977-Д от 19.12.2002. М.: МЗ РФ, ИКТБ; 2003.
- 63. Лужников Е. А., Дагаев В. Н.** Введение. В кн.: Информационные проблемы клинической токсикологии: сб. науч. трудов. НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского. М.;1994. Т. 93: 3-4.
- 64. Лужников Е. А., Дагаев В. Н., Остапенко Ю. Н.** Информационное обеспечение врача-токсиколога. В кн.: Информационные проблемы клинической токсикологии: сб. науч. трудов. НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского. М.;1994. Т. 93: 5-12.
- 65. Лужников Е. А.** Общие принципы диагностики и лечения острых отравлений. В кн.: Курляндский Б. А., Филлов В. А., ред. Общая токсикология. М.: Медицина; 2002. Гл. 17: 587-600.
- 66. Лужников Е. А., Гольдфарб Ю. С., Суходолова Г. Н., Мусселиус С. Г.** Особенности интенсивной терапии острых отравлений. В кн.: Гельфанд Б. Р., Салтанов А. И., ред. Интенсивная терапия: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР; 2009. Т. II. Гл. 14: 433-490.
- 67. Рагимов А. А., ред.** Трансфузиологическая гемокоррекция: учебное пособие для врачей. М.: Практическая медицина; 2008. Гл. 10-13: 222-323.

REFERENCES:

- 1. Lopatkin N.A., Lopukhin Y.M.** Efferent methods in medicine. Moscow: Meditsina Publ.; 1989. (in Russian).
- 2. Glozman O.S., Kasatkina A.P.** Complete replacement and exchange transfusion. Moscow: Publishing House of the Academy of Medical Sciences of the USSR, 1950. (in Russian).
- 3. Tzanck A., Bessis M., Dausset J.** Resultats du traitement des nephrites anuriques par les exsanguino-transfusion. Statistique de 95 cas. Bulletin et mémoires de la Société médicale des hôpitaux de Paris. 1950; 66 (23-24): 1125-1130.
- 4. Kolff W.J.** The artificial kidney - past, present, and future // Circulation. 1957; 15 (2): 285-294.
- 5. Grollman A., Turner L.B., McLean J.A.** Intermittent peritoneal lavage in nephrectomized dogs and its application to the human being. Arch. Int. Med. 1951 (87): 379-390.
- 6. Kulakov G.P., Mendelson M.M., Gorbovitskiy E.B., Simovskiy R.S.** About combined application of artificial kidney and peritoneal dialysis. Klin. Med. 1963; 7: 111-116. (in Russian).
- 7. Yatzidis H.** A convenient haemoperfusion microapparatus over charcoal for the treatment of endogenous intoxications. Its use as on effective artificial kidney. Proc. Europ. Dial. Transplant. Ass. 1964; 1: 83-86.
- 8. Lopukhin Y.M., Molodenkov M.N., Mashkov O.A., Morozov Yu.I., Kuznetsov V.N., Efimov V.S.** Experimental studies and first clinical experience with haemadsorption in acute liver failure. Transplantation of endocrine organs in the clinic and experiment. Extracorporeal haemadsorption. Moscow, 1972. (in Russian).
- 9. Sukhinin P.L., Luzhnikov E.A., Shimanko I.I., Firsov N.N., Yaroslavskiy A.A.** Evaluation of different methods of removing toxic substances from the body in acute poisoning. Acute poisoning. Diagnosis, clinic and treatment. Tr. 1st All-Russian Conf. Clinical Toxicology, Moscow, 26-28 November 1968. Moscow, 1970. 243-247. (in Russian).
- 10. Komarov B.D., Luzhnikov E.A., Shimanko I.I.** Surgical methods of acute poisoning treatment. Moscow: Medgiz Publ., 1981. (in Russian).
- 11. Wiesner S., Frick G., Hübner W.** Erfahrungen mit der Ultravioletbestrahlung des Blutes bei chronischen Erkrankungen. Z. Ärtzl. Fortbild. (Jena). 1974; 68 (1): 10-13.
- 12. Potashov L.V., Chemina V.R.** Reinfusion of own irradiated blood of surgical patients. Vestn. Khir. 1980; 10: 144-146. (in Russian).
- 13. Minton J.P.** The laser in Surgery. A 23 year perspective. Am. J. Surg. 1986; 151 (6): 725-729.
- 14. Gostishchev V.K., Shkrob L.O., Vert'yanov V.A.** Effect of intravascular laser irradiation of blood on the immune system of patients with chronic osteomyelitis. Khirurgiya. 1991; 9: 98-102. (in Russian).
- 15. Sergienko V.I., Vasiliev J.B.** Electrochemical methods of detoxication for medical use. Sov. med. revs. Harwood. Acad. Publ. GMBH. 1988; Vol. 2.
- 16. Fedorovskiy N.M.** Indirect electrochemical detoxification. Anesthesiol. i Reanimatol. 1995; 6: 46-50. (in Russian).
- 17. Goldfarb Yu.S.** Physico-chemical methods of haemotherapy in acute exogenous and endogenous toxemia. Anesthesiol. i Reanimatol. 1995; 3: 48-55. (in Russian).
- 18. Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S.** Physiohaemotherapy of acute poisoning. Moscow: Medpraktika-M Publ., 2002. (in Russian).
- 19. Khubutiya M.Sh., Luzhnikov E.A., Tajiev I.J., Kabanova S.A., Goldfarb Yu.S.** Legal regulation of domestic clinical toxicology service. Bulletin of RAMS. 2013 (11): 66-72. (in Russian).
- 20. Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S., Kabanova S.A., Ostapenko Yu.N., Tajiev I.J.** The regulatory and legal framework of extracorporeal detoxification in acute poisoning by chemical etiology and its contribution to the formation of the Moscow Center for Toxicology of N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine. Ninth Int. Conf. "Actual aspects of extracorporeal blood purification in intensive care", Moscow, 22-23 May 2014. Coll. materials. Moscow, 2014. 73-74. (in Russian).
- 21. Luzhnikov E.A., Misulovin Ya.I., Goldfarb Yu.S., Kutushov M.V.** Patent RU 2012383 on 15.05.94, the priority from 27.06.91. Application 4951148. 1994. (in Russian).
- 22. Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S., Misulovin I.A., Firsov N.N., Sirko I.V., Burikina I.A.** Magnetic haemotherapy as an effective resuscitation technique for treatment of acute exogenous poisoning. Curr. Toxicol. 1993; 1: 133-139.
- 23. Sukhinin P.L., Dagaev V.N., Luzhnikov E.A.** The organization and operation of the Center for the treatment of acute poisoning in the N.V. Sklifosovsky Research Institute. Acute poisoning. Diagnosis, clinic and treatment. Proc. 1st All-Russian Conf. Clinical Toxicology. Moscow, 26-28 November 1968. Moscow, 1970: 11-18. (in Russian).
- 24. Kopusov E.S.** Organization of treatment of acute poisoning in Leningrad. Acute poisoning. Diagnosis, clinic and treatment. Proc. 1st All-Russian Conf. Clinical Toxicology. Moscow, 26-28 November 1968. Moscow, 1970: 34-37. (in Russian).
- 25. Glozman O.S.** The work of the National Center for the control of acute toxicosis in the Kazakh SSR. Acute poisoning. Diagnosis, clinic and treatment. Proc. 1st All-Russian Conf. Clinical Toxicology. Moscow, 26-28 November 1968. Moscow, 1970: 37-39. (in Russian).
- 26. Gluhovskaya N.Y.** Operation of blood replacement in acute exogenous intoxications: Synopsis dissmed. sciences. Moscow, 1974. (in Russian).
- 27. Yaroslavskiy A.A.** Operation early haemodialysis in the treatment of acute poisoning: Synopsis dissmed. sci. Moscow, 1971. (in Russian).
- 28. Musselius S.G.** Operation of early peritoneal dialysis in acute exogenous poisoning: Synopsis dissmed. sci. Moscow, 1974. (in Russian).
- 29. Bektimirov R.A.** Haemosorption in the treatment of patients with acute poisonings by psychotropic drugs (clinical and experimental study): Synops. diss ... cand. med. sci. Kiev, 1979. (in Russian).
- 30. Potshveriya M.M.** The use of ultraviolet light irradiation in treatment of acute poisoning with organophosphorus insecticides: Synopsis dissmed. sci. Moscow, 1987. (in Russian).
- 31. Kutushov M.V.** Magnitohaemotherapy application in treatment of acute poisoning with organophosphorus insecticides: Synopsis dissmed. sci. Moscow, 1990. (in Russian).
- 32. Goldfarb Yu.S.** Extracorporeal methods of complex perfusion detoxification in acute poisoning: Diss ... doct. med. sci. in the form of scientific. rep. Moscow, 1992. (in Russian).
- 33. Badalyan A.V.** Application of laser haemotherapy in treatment of acute exogenous poisoning: Synopsis dissmed. sci. Moscow, 1998. (in Russian).
- 34. Melkonian Sh.L.** Detoxification effect of combined physiohaemotherapy in acute poisoning by psychotropic and hypnotic drugs: Synopsis diss ... cand. med. sci. Moscow, 2000. (in Russian).
- 35. Matkevich V.A.** Intestinal lavage in acute oral poisoning: Synopsis diss ...cand. med. sci. Moscow, 1988. (in Russian).
- 36. Petrov S.I.** The use of sodium hypochlorite in clinical toxicology: Synopsis diss ...doct. med. sci. Moscow, 2005. (in Russian).
- 37. Luzhnikov E.A., Dagaev V.N., Firsov N.N.** Fundamentals of resuscitation in acute poisoning. Moscow: Meditsina Publ., 1977. (in Russian).
- 38. Luzhnikov E.A., Sentsov V.G., Sukhodolova G.N., Meledin V.Y.** Acute poisoning with amitriptyline. Ekaterinburg:

- Publishing House of the Urals. University Press, 2000. (in Russian).
39. *Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S., Musselius S.G.* Detoxification Therapy: A Guide. St. Petersburg: Lan Publ., 2000. (in Russian).
40. *Kutsenko S.A.* Fundamentals of Toxicology: Scientific-methodical edition. St. Petersburg: LLC Publishing Tome, 2004. (in Russian).
41. *Bonitenko E.Yu.* Acute poisoning by drugs and narcotics. St. Petersburg: ELBI-SPb Publ., 2010. Part 1. (in Russian).
42. *Luzhnikov E.A., ed.* Medical Toxicology: National leadership. Moscow: GEOTAR Media Publ., 2012. (in Russian).
43. *Sentsov V.G.* Acute poisoning by Clonidine: Synops. diss ...doct. med. sci. Moscow, 1995. (in Russian).
44. *Batotsyrenov B.V.* Pathogenetic basis of intensive therapy of non-specific lesions in the early phase of acute intoxication with neurotropic poisons: Synopsis diss ...doct. med. sci. St. Petersburg, 2002. (in Russian).
45. *Brusin K.M.* Toxic damage of the heart in acute poisoning of chemical etiology: Synops. diss ...doct. med. sci. Moscow, 2003. (in Russian).
46. *Matkevich V.A.* Enteral detoxification in acute peroral poisoning: Synops. diss ...doct. med. sci. Moscow, 2013. (in Russian).
47. *Tonkopyiy D.V.* An elimination detoxification methods in acute poisonings by organophosphorus insecticides: Synops. diss ...cand. med. sci. St. Petersburg, 1992. (in Russian).
48. *Narzikulov R.A.* Features of the development and course of endotoxemia in patients with acute severe poisoning by neurotropic drugs using efferent methods of detoxification: Synops. diss ...cand. med. sci. St. Petersburg, 2000. (in Russian).
49. *Novikova O.V.* Optimization of preoperative preparation and haemodialysis in patients with poisoning by organophosphorus insecticides: Synops. diss ...cand. med. sci. Ekaterinburg, 2000. (in Russian).
50. *Maslov O.G.* Justification of detoxication program in intensive therapy of acute poisoning by carbamazepine: Synops. diss ...cand. med. sci. Ekaterinburg, 2012. (in Russian).
51. *Gribova N.G.* Infusion ozone therapy in the treatment of acute poisoning by psychopharmacological drugs (experimentally-clinical research): Synopsis diss ...cand. med. sci. Voronezh, 2010. (in Russian).
52. *Baturova I.V.* The use of sodium hypochlorite in the treatment of acute ethanol poisoning taking into account the premorbid factor: Synopsis diss ...cand. med. sci. Moscow, 2006. (in Russian).
53. *Luzhnikov E.A., Yaroslavskiy A.A.* Emergency care in acute poisoning. Method. instructions. Moscow: NII skoroy pomoshchi im. N.V. Sklifosovskogo, MZ RSFSR; 1974. (in Russian).
54. *Komarov B.D., Luzhnikov E.A., Alexandrovskiy V.N., Muromov A.L.* Organization of specialized care in acute poisoning: Method. rec. Moscow: MZ RSFSR; 1975. (in Russian).
55. *Luzhnikov E.A., Yaroslavskiy A.A., Barsukov Yu.F.* Application of artificial detoxification in acute poisoning: Method. adv. Moscow: MZ RSFSR; 1980. (in Russian).
56. *Luzhnikov E.A., Matkevich V.A., Goldin M.M.* The combined use of intestinal lavage and enterosorption in acute oral poisoning: Method. adv. Moscow: MZ RSFSR; 1990. (in Russian).
57. *Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S., Il'yashenko K.K., Yastrebova E.V., Petrov S.I., El'kov A.L. et al.* The use of physico-chemical haemotherapy in acute poisoning: Method. adv. Moscow: Health Committee; 1997. (in Russian).
58. *Luzhnikov E.A., Muromov A.L.* The symptoms and treatment of acute barbiturate poisoning: Method. adv. Moscow: MZ RSFSR; 1975. (in Russian).
59. *Sterekhova N.P., Savushkin N.V., Sentsov V.G., Klebanova V.V., Zaykovskiy V.N., Myachkov A.Ya. et al.* Intensive therapy of severe intoxication by organophosphorus pesticides: Inform. letter to physicians of the region. Sverdlovsk: ON "Printing"; 1988. (in Russian).
60. *Brusin K.M., Sentsov V.G., Rockin S.R.* Acute clonidine poisoning in adults. The clinic, diagnosis and treatment: Method. letter to physicians. Ekaterinburg; 2002. (in Russian).
61. *Bonitenko E.Yu., Bushuev E.S., Bychkov V.A., Velikova V.D., Gorbacheva T.V., Ivanova E.A. et al.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and non-narcotic analgesics poisoning: clinic, diagnostics, treatment: a manual. Saint-Petersburg: Medkniga ELBI-SPb Publ., 2012. (in Russian).
62. *Ostapenko Yu.N., Khonelidze R.S., Litvinov N.N.* Organization of the work of centers (departments) of acute poisoning by the implementation of modern medical, diagnostic and information technology: Method. instructions № 2003/57, State contract with the MZ RF № 977-D of 19.12.2002. Moscow: MZ RF, IKTTs; 2003. (in Russian).
63. *Luzhnikov E.A., Dagaev V.N.* Introduction. Information problems of Clinical Toxicology. Coll. sci. papers. Moscow: N.V. Sklifosovsky Institute for Emergency Medicine. 1994; 93: 3-4. (in Russian).
64. *Luzhnikov E.A., Dagaev V.N., Ostapenko Yu.N.* Information support of physician-toxicologist. Information problems of Clinical Toxicology. Coll. sci. papers. Moscow: N.V. Sklifosovsky Institute for Emergency Medicine. 1994; 93: 5-12. (in Russian).
65. *Luzhnikov E.A.* General principles of diagnosis and treatment of acute poisoning. In: B.A. Kurlandsky, V.A. Filov, eds. General Toxicology. Moscow: Meditsina Publ., 2002. Chap. 17: 587-600. (in Russian).
66. *Luzhnikov E.A., Goldfarb Yu.S., Sukhodolova G.N., Musselius S.G.* Features of intensive therapy of acute poisoning. In: Intensive Care: B.R. Gelfand, A.I. Saltanov, eds. National leadership. Moscow: Publishing Group GEOTAR, 2009. Vol. II. Chap. 14: 433-490. (in Russian).
67. *Ragimov A.A., ed.* Transfusion haemorrhage: a manual for physicians. Moscow: Prakticheskaya Meditsina Publ. 2008. Chap. 10-13: 222-323. (in Russian).

E.A. Luzhnikov^{1,2}, Yu.S. Goldfarb^{1,2}, S.A. Kabanova¹, V.A. Matkevich¹, Yu. N. Ostapenko^{1,2}, P.M. Bogopolskiy¹

REGULATORY AND LEGAL FRAMEWORK OF USING ARTIFICIAL DETOXIFICATION METHODS IN ACUTE POISONING OF CHEMICAL ETIOLOGY

¹ N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Public Healthcare Institution of the Moscow Healthcare Department, 129090, Moscow, Russian Federation

² State Budgetary Educational Institution of Additional Professional Education «Russian Medical Academy of Postgraduate Education», RF Ministry of Health, 123242, Moscow, Russian Federation

A simultaneous analysis of scientific resources and regulatory and legal documents over 1970–2012 concerning a complex application of artificial detoxification methods (ADM) (operation of blood replacement and sorption-dialysis detoxification) at acute poisoning (AP) showed a close temporal relationship between the introduction of ADM in toxicological department of N.V.Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine and other toxicological centers (departments) of Russia and appearing of legal documents requiring their application in accordance with guidelines based on clinical and laboratory data. Activities of the Toxicology Department at the N.V. Sklifosovsky Institute, unparalleled in scope and range, give reason to consider it is a leading scientific and methodological base for the development of normative and legal documents regulating the use of ADM as part of Toxicology Service of Russia. It is noted that delays in the implementation of a comprehensive detoxification in pathology under consideration at the regulatory and legal level entail the impossibility of providing the most effective specialized medical care.

Keywords: acute poisoning, treatment, artificial detoxification, regulatory and legal frame

Материал поступил в редакцию 05.02.2015 г.

УДК 547.262 :615.2

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НОВЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРА МОЛИКСАН ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ ЭТАНОЛОМ

Д.А. Халютин¹, А.А. Ховпачев¹, А.Н. Гребенюк¹,
В.Л. Рейнюк¹, А.Е. Антушевич¹, А.А. Колобов²

¹Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства России, 197110, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Представлена сравнительная оценка эффективности новых пептидных препаратов с общей структурой Acetyl-Lys-Lys-Arg-Arg-amide (шифр КК) и моликсана в качестве средств коррекции нарушений функций центральной нервной системы, развивающихся в токсикогенную и соматогенную стадии интоксикации этанолом у крыс. Этанол вводили внутривентрикулярно в дозе 1 ЛД₅₀ (8 г/кг). Пептиды КК₁ и КК₁₀ вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг, моликсан – внутривентрикулярно в дозе 30 мг/кг через 30 мин после начала интоксикации. Установлено, что этанол в дозе 1 ЛД₅₀ в токсикогенную стадию интоксикации нарушает функции центральной нервной системы и приводит к гибели 44% животных, а в соматогенную – вызывает нарушения памяти, процессов обучения и моторики выживших крыс в течение двух недель от начала интоксикации. При коррекции острой алкогольной интоксикации пептидными препаратами КК₁ и КК₁₀ выживаемость крыс составила 100%, при использовании моликсана – 88%. Кроме того, лечебное введение пептидов КК₁ и КК₁₀ позволяло избегать возникновения состояний, классифицируемых как «кома», и оказывало антиамнестический эффект. Применение пептидов линии КК и моликсана ускоряет темпы восстановления обучаемости, физической выносливости и координации движений отравленных животных в 1,5-2 раза.

Ключевые слова: этанол, отравление, лечение, пептиды, выживаемость, функции центральной нервной системы.

Введение. Благодаря активным мерам, принимаемым государством по сокращению потребления алкогольной продукции, уровень потребления этанола в нашей стране постепенно снижается: по данным Росстата, средний по Российской Федерации объем продаж населению ликероводочных изделий в 2013 г. и первом квартале 2014 г. в абсолютных цифрах составляет 9,1 л на душу населения, что меньше данного показателя предыдущих лет (в 2011 г. – 13,2 л) [4,18].

В результате снижения уровня потребления этанола прослеживается положительная динамика количеств острых отравлений относительно прошлых лет: в 2013 г. удельный показатель острых отравлений от спиртосодержащей продукции составил 36 случаев на 100 тыс. населения (в 2012 г. – 38,8; в 2011 г. – 43,8), в том числе с летальным исходом 9,4 случая на 100 тыс. населения (в 2012 г. – 10,1; в 2011 г. – 11,0) [9,10,18]. В общем, с 2011 по 2013 гг. на территории страны

Халютин Денис Александрович (Halyutin Denis Aleksandrovich), адъюнкт при кафедре военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, hal-denis81@yandex.ru

Ховпачёв Алексей Андреевич (Hovpachev Alexey Andreevich), слушатель факультета подготовки врачей Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, kmkk2005@rambler.ru

Гребенюк Александр Николаевич (Grebenuk Aleksandr Nikolaevich), доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, grebenuk_an@mail.ru

Рейнюк Владимир Леонидович (Reynuk Vladimir Leonidovich), доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, vladton@mail.ru

Антушевич Александр Евгеньевич (Antushevich Aleksandr Evgenyevich), доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории военной терапии научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, mantushevich@mail.ru

Колобов Александр Александрович (Kolobov Aleksandr Aleksandrovich), доктор биологических наук, заведующий лабораторией химии пептидов Государственного научно-исследовательского института особо чистых биопрепаратов ФМБА России, 197170, г. Санкт-Петербург, kolobov@hpb-spb.com

зарегистрированы 169 792 случая острых отравлений спиртосодержащей продукцией, что составляет 41,2% от числа всех отравлений, в том числе 43 626 случаев (25,7 %) – с летальным исходом [7, 18]. Кроме того, потери от острых отравлений этанолом из-за косвенных последствий его употребления, при диагностике которых наличие отравлений этанолом статистически регистрируется не всегда (например, коморбидная соматическая патология), в России могут достигать 400 тыс. человек в год [3,6].

Несмотря на снижение количества острых отравлений этанолом, смертность на догоспитальном этапе остается высокой [2,12]. Особенную озабоченность вызывает то, что после перенесенной острой тяжелой интоксикации этанолом у значительного количества пациентов сохраняются остаточные явления и отдаленные последствия, связанные с нарушением функции центральной нервной системы (ЦНС), что обуславливает большие сроки пребывания в стационаре [8]. Из этого следует, что продолжение поиска эффективных средств для терапии острых отравлений этанолом, способных повлиять на течение токсикогенной и соматогенной стадии интоксикации является актуальным направлением для токсикологии.

В ряде исследовательских работ в качестве средств, корректирующих функции ЦНС, которые нарушаются уже в самом начале интоксикации этанолом, использовались пептидные препараты [1,8,12,20]. Интерес фармакологов и токсикологов к препаратам данной группы объясняется их высокой активностью при использовании в малых дозах, отсутствием выраженных побочных эффектов, феноменов привыкания и отмены при относительно длительном курсе лечения, возможностью интраназального введения [23,24]. Независимо от того, что к настоящему времени применение пептидов является общемедицинской тенденцией, данные об эффективности различных пептидов в терапии интоксикаций этанолом ограничены и требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования: экспериментальная оценка эффективности пептидных препаратов линии КК и моликсана в терапии острых тяжелых отравлений этанолом.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование выполнено на 50 белых нелинейных крысах самцах массой 180–220 г питомника лабораторных животных «Рапполово» (пос. Рапполово Ленинградской обл.).

При проведении исследования выполнялись рекомендации по экспериментальному изучению новых фармакологических средств и требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных,

в том числе по гуманному отношению к ним [19].

Этанол (этиловый спирт, C_2H_5OH) в виде 40% раствора вводили внутривенно при помощи зонда в дозе 1 ЛД₅₀ (8 г/кг). В связи с большим объемом вводимого раствора указанную дозу делили поровну на два введения через 15 мин.

В работе были использованы пептидные препараты: КК₁, КК₁₀ и моликсан.

Субстанции КК₁ и КК₁₀ (ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, г. Санкт-Петербург) представляют собой порошкообразные лиофилизаты белого цвета. Данные субстанции относятся к классу пептидов, гомологичных по первичной последовательности участку 15–18 адренкортикотропного гормона: Acetyl-(D-Arg)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Lys)-amide (шифр КК₁) и Acetyl-(D-Arg)-(D-Arg)-(D-Lys)-(D-Lys)-amide (шифр КК₁₀). Лиофильно высушенные препараты КК₁ и КК₁₀ разводили в дистиллированной воде из расчета 0,2 мг/мл (0,02%) и вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг.

Моликсан представляет собой прозрачный или слабо окрашенный, без запаха или со слабым запахом уксусной кислоты 3% раствор производства ЗАО «Фарма ВАМ» (г. Санкт-Петербург). Моликсан также относится к классу пептидных препаратов и представляет собой органическую соль, включающую инозин (пуриновый компонент) и глутатион (пептидный компонент) в соотношении 1:1. Официальный препарат разводили в физиологическом растворе и вводили в виде 0,3% раствора внутривенно в дозе 30 мг/кг.

Все изученные пептидные препараты вводили через 30 мин после начала интоксикации. Выбор доз и схемы введения фармакологических препаратов был осуществлен на основании данных литературы, инструкций и рекомендаций по применению [1,8,11,14]. Крысам контрольной группы в тот же временной промежуток в аналогичных объемах вводили интраназально и внутривенно физиологический раствор.

В токсикогенную стадию интоксикации у животных оценивали: выживаемость, неврологический статус, частоту дыхательных движений и температуру тела. Выживаемость оценивали при 3-х суточном наблюдении и выражали ее в процентах (%) по отношению к общему числу животных в группе. Частоту дыхательных движений (ЧДД) оценивали визуально путем подсчета количества дыханий за 1 мин. Для определения ректальной температуры тела использовали электронный медицинский термометр Microlife MT 3001. При оценке функции ЦНС в токсикогенную стадию интоксикации по критериям методики определения неврологических нарушений [2] помимо физиологической нормы у животных выделяли следующие состояния: 1) оглу-

шение, 2) сопор, 3) кома поверхностная, 4) кома глубокая, 5) кома терминальная.

Для исследования процесса восстановления в соматогенную стадию интоксикации использовали поведенческие методики: крестообразный лабиринт, вращающийся стержень, условная реакция пассивного избегания (УРПИ), условная реакция активного избегания плавания без предварительного обучения (УРАИ) [4,12].

Количество крыс в группах было выбрано с учетом их возможной гибели и было достаточным для проведения психофизиологического тестирования [4]. Тестирование животных проводили на 2, 5, 7, 14 сут после интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные подвергали стандартной статистической обработке на персональном компьютере с использованием программы «Statistica+ 2005» версии 3.5.0.5 для операционной среды «Windows». Среднюю ошибку альтернативных показателей определяли по таблицам Генеса. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m_x$ (m_x – ошибка среднего M). Достоверность различий средних значений показателей выживаемости и состояния функции ЦНС животных оценивали с использованием t -критерия Стьюдента для относительных величин. Для оценки достоверности различий данных, характеризующих витальные и психофизиологические функции животных, применяли U -критерий Манна–Уитни для абсолютных величин и критерий Фишера для относительных. Вероятность $p \leq 0,05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных данных [15, 16, 19].

Результаты и обсуждение. В токсикогенную

стадию интоксикации этанол в дозе 1 ЛД₅₀ вызывал у животных значительные нарушения функций центральной нервной системы, которые проявлялись постепенным снижением двигательной активности и защитного поведения, угнетением рефлексов переворачивания, сгибания конечностей, роговичного, корнеального и глоточного рефлексов, нарушением показателей витальных функций. Среднее время возникновения состояния комы после введения этанола составляло $80,7 \pm 8,8$ мин. Выживаемость составила 56%.

Лечебное применение пептидов линии КК полностью предупреждало дальнейшее развитие процесса нарушения функций ЦНС, при этом после введения пептидов животным дальнейшего развития неврологических нарушений не наблюдалось. Количество выживших крыс в группах «этанол+КК₁» и «этанол+КК₁₀» составило 100%. Применение моликсана также позволило снизить тяжесть интоксикации животных и повысить их выживаемость до 88% (табл. 1).

Установлено, что острое тяжелое отравление этанолом в дозе 1 ЛД₅₀ привело к значительному, по сравнению с группой контроля, снижению температуры тела и ЧДД, что объясняется типовыми патологическими процессами, возникающими при данном виде интоксикаций [3, 6, 13]. Введение КК₁, КК₁₀ и моликсана способствовало поддержанию температуры и частоты дыхания на протяжении 3 ч от начала интоксикации этанолом по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

При моделировании острого тяжелого отравления этанолом снижение умственной и физической деятельности у выживших животных наблюдали до 14 сут, хотя признаки комы нивели-

Таблица 1

Влияние пептидных препаратов на течение острой интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀ у крыс

Группа (число животных)	Неврологический статус после введения этанола, %					Время наступления комы, мин	Выживаемость, %
	оглушение	сопор	поверхностная кома	глубокая кома	терминальная кома		
Контроль (n=9)	100-11	100-11	100-11	78±14	56±18	80,7±8,8	56±18
Этанол+КК1 (n=6)	100-17	100-17	0+17*	0+17*	0+17*	-	100-17*
Этанол+КК10 (n=6)	100-17	100-17	0+17*	0+17*	0+17*	-	100-17*
Этанол+моликсан (n=8)	100-12	100-12	88±12	50±19	50±19	81,8±12,6	88±12

Примечание: – * – различие с группой «контроль» по t -критерию Стьюдента значимо, $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Влияние пептидных препаратов на витальные функции крыс через 1, 2, 3 ч после начала интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀

Группа (число животных)	Температура тела, °С			Количество дыхательных движений за 1 мин		
	Сроки наблюдения, ч					
	1	2	3	1	2	3
Интактные животные (n=6)	38,6±0,1	38,6±0,1	38,6±0,1	92±2	90±3	91±3
Контроль (n=9)	36,2±0,2*	35,3±0,2*	35,0±0,2*	94±3	73±5*	64±6*
Этанол+КК ₁ (n=6)	37,3±0,1*#	36,5±0,1*#	36,3±0,2*#	103±4*	104±4*#	97±5#
Этанол+КК ₁₀ (n=6)	37,1±0,1*#	36,9±0,2*#	36,7±0,1*#	114±3*#	112±6*#	103±4*#
Этанол+моликсан (n=8)	36,9±0,1*#	36,1±0,2*#	35,7±0,3*	96±4	87±4	75±13

Примечание:

* – различие с группой «интактные животные» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

– различие с группой «контроль» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$.

ровалось уже к концу вторых суток. Все пептидные препараты оказывали позитивное влияние на психофизиологические показатели крыс, подвергнутых острому крайне тяжелому отравлению этанолом.

Оценка способности к выработке условной реакции активного избегания плавания у предварительно нетренированных крыс позволила выявить динамику приобретения навыка избегания воды при повторных тестированиях реакции и, тем самым, изучить влияние этанола на процесс обучения экспериментальных животных. Интоксикация этанолом в дозе 1 ЛД₅₀ приводила к увеличению времени нахождения в бассейне (латентный период плавания) отравленных

крыс по сравнению с интактными животными на протяжении 7 сут после момента интоксикации.

Введение препаратов КК₁ и КК₁₀ ускоряло выработку рефлекса по сравнению с крысами, не получавшими пептидов. Необходимо отметить, что в этих группах, по результатам использованного теста, временные значения латентного периода плавания в бассейне на 7 и 14 сут после введения этанола не отличались от показателей интактных животных (табл. 3).

По показателю изменения латентного периода лечебное применение моликсана также было эффективно: на 2 сут данный показатель группы «этанол+моликсан» достиг нормальных значе-

Таблица 3

Влияние пептидных препаратов на длительность латентного периода плавания у предварительно необученных крыс после интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀, с

Группа (число животных)	Сроки наблюдения, сут			
	2	4	7	14
Интактные животные (n=6)	55,3±3,4	33,3±3,8	21,6±2,2	17,3±1,6
Контроль (n=5)	93,0±18,2*	56,4±12,3*	46,4±13,7*	25,0±6,1
Этанол+КК ₁ (n=6)	61,5±3,8#	31,8±2,0#	23,5±2,7	14,2±2,0#
Этанол+КК ₁₀ (n=6)	64,5±4,4#	27,9±4,5#	16,0±3,3#	15,5±1,6
Этанол+моликсан (n=7)	75,6±5,1#	37,8±1,7#	24,6±4,2	18,3±3,2

Примечание:

* – различие с группой «интактные животные» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

– различие с группой «контроль» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$.

ний, а на 4 сут отличался от группы «контроль» в 1,5 раза.

Использование теста «вращающийся стержень» позволило оценить наличие мышечной релаксации, нарушения равновесия и координации движений. Введение этанола в дозе 1 ЛД₅₀ значительно снижало время нахождения на вращающемся стержне.

В результате оценки степени корригирующего эффекта пептидных препаратов, по критерию времени удержания на вращающемся стержне, отмечаются достоверные различия по сравнению с группой «контроль», начиная со 2 сут интоксикации. Лечебный эффект был наиболее выражен при применении пептидов КК₁ и КК₁₀. Так, на 4 сут интоксикации достоверных различий между группами, получившими пептиды КК, и группой интактных животных выявлено не было. В группе, получившей моликсан, на 2 сут животные находились на стержне в среднем в 1,5 раза больше, по сравнению с группой «контроль» (табл. 4).

Интоксикация этанолом привела на 2, 4, 7 сут к снижению числа животных, избегавших «опасной» темной камеры в 4 раза, и уменьшению латентного периода (ЛП_x – ЛП₀) входа в темную камеру в 2–2,5 раза, по сравнению с группой интактных животных.

Введение пептидных препаратов повлияло на долговременную память животных в различной степени. По показателю разности латентных периодов КК₁ и КК₁₀ достоверно отличались от группы «контроль», при этом разницы с интактными животными выявлено не было, что позволяет предположить наличие у препаратов линии КК антиамнестического эффекта при коррекции этанольной интоксикации.

Моликсан также способствовал нахождению животных в «безопасной» камере, однако в несколько меньшей степени, чем пептиды линии КК. Так, на 2 сут после введения этанола латентный период перехода в темную камеру у крыс группы «этанол+моликсан» был в 2 раза больше по сравнению с животными контрольной группы (табл. 5).

При использовании методики «крестообразный лабиринт» систематически значимых изменений между группами, по которым можно было бы сделать определенное заключение о влиянии пептидов линии КК и моликсана на когнитивные функции крыс в постинтоксикационный период, выявлено не было, за исключением наличия «неассоциативного обучения», что было отмечено ранее [12].

В соответствии с классификацией токсикантов по «избирательной токсичности», представленной в Национальном руководстве «Медицинская токсикология», этанол относится к психотропным веществам, обладающим нейротоксическим действием [13]. В основе специфического действия этилового спирта на нервную систему лежит прямое и опосредованное повреждение им и его метаболитами плазматических и внутриклеточных мембран. Такие нарушения мембранных структур сопровождаются возникновением липид-липидных и липид-белковых «сшивок», изменением ориентации жирнокислотных остатков фосфолипидов, что приводит к изменению текучести биомембран, повышению их ионной проницаемости и нарушению функций рецепторных аппаратов нейронов [3,6,22]. Предполагается, что эти изменения и являются основой седативного и депримирующего действия этанола [2,17]. Ука-

Таблица 4

Влияние пептидных препаратов на время удерживания крыс на вращающемся стержне в различные сроки после интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀, с

Группа (число животных)	Сроки наблюдения, сут			
	2	4	7	14
Интактные животные (n=6)	162,6±7,0	157,0±6,1	170,8±6,1	159,8±10,1
Контроль (n=5)	48,8±6,0*	93,6±9,0*	115,6±12,8*	160,8±5,4
Этанол+КК ₁ (n=6)	97,8±14,3*#	165,0±8,4#	165,8±8,9#	169,3±5,5
Этанол+КК ₁₀ (n=6)	105,0±23,3*#	157,5±9,2#	170,0±6,4#	164,1±7,9
Этанол+моликсан (n=7)	75,1±12,7*	124,6±15,9	128,0±23,0	170,6±6,1

Примечание:

* – различие с группой «интактные животные» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

– различие с группой «контроль» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$.

Таблица 5

Влияние пептидных препаратов на изменение показателя латентного периода пассивного избегания (ЛП_x-ЛП₀) болевого раздражителя у крыс после интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀, с

Группа (число животных)	ЛП ₂ -ЛП ₀	ЛП ₄ -ЛП ₀	ЛП ₇ -ЛП ₀	ЛП ₁₄ -ЛП ₀
Интактные животные (n=6)	149,5±21,7	143,8±27,4	98,1±32,4	63,6±33,3
Контроль (n=5)	67,0±24,1*	51,6±25,9*	41,8±27,3*	8,8±6,0*
Этанол+КК ₁ (n=6)	136,5±25,0#	129,3±28,4#	76,0±30,6	62,5±34,4#
Этанол+КК ₁₀ (n=6)	158,8±11,8#	127,0±28,4#	110,0±34,7	89,8±36,7#
Этанол+моликсан (n=7)	124,6±23,9#	86,1±27,9*#	98,8±27,4	12,8±3,3*

Примечание:

* – различие с группой «интактные животные» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$;

– различие с группой «контроль» по U-критерию Манна-Уитни значимо, $p \leq 0,05$.

занные механизмы действия этанола послужили критериями выбора изучаемых пептидных препаратов, имеющих функционально антагонистические эффекты.

Влияние на течение тяжелой алкогольной интоксикации комбинированного препарата моликсана обусловлено его составляющими компонентами – окисленным глутатионом и инозином [1]. Глутатион восстанавливает процессы детоксикации продуктов метаболизма этанола и коррекции нарушений кислотно-основных процессов (активирует ферменты антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатион-пероксидазы), а так же восстанавливает ряд поверхностно-клеточных рецепторов, содержащих сульфгидрильные группы. Инозин, входящий в состав моликсана, поддерживает нарушенный энергетический клеточный обмен, так как при взаимодействии с фосфорной кислотой образует ряд соединений макроэргов [1,8].

Точный спектр механизмов действия пептидов линии КК в настоящее время полностью не изучен. Однако известно, что их эффекты на организм, подвергшийся интоксикации этанолом, могут быть связаны влиянием на текучесть синаптических мембран, модуляцию рецепторных функций, процессы фосфорилирования белков, торможением активации микроглии, избыточного синтеза нейротоксичных цитокинов и улучшением микроциркуляции во внутренних органах [14]. Ранее было показано, что пептиды линии КК оказывали стимулирующее влияние на холинергические процессы в головном мозге на примере скополаминовой модели амнезии [11].

Холинергические нейромедиаторные системы головного мозга вовлечены в регуляцию различных функций центральной нервной системы [5].

По мнению ряда авторов, механизмы угнетения сознания этанолом помимо нарушения нормального функционирования ГАМК- и глутаматергических комплексов непосредственно опираются и на холинергические рецепторные системы мозга [5,6,21,25].

Обнаруженные нами психофизиологические изменения у крыс, вызванные этанолом, были аналогичны выявленным другими авторами [12]. Установлено, что нарушения исследуемых психофизиологических функций у отравленных этанолом крыс сохраняются в течение 14 сут от начала интоксикации. При этом моликсан и пептиды линии КК улучшают исследуемые показатели начиная со 2 сут, а восстанавливают к 4–7 сут. Помимо положительного влияния на выживаемость, моликсан также оказывал адаптогенный эффект, который мог быть опосредован входящими в его состав окисленным глутатионом и инозином [1].

Пептиды линии КК также значимо повлияли на скорость восстановления психофизиологических параметров животных, что в свою очередь может быть связано с предполагаемыми механизмами их действия [11,14]. Известно, что уровень ацетилхолина в ответственных за память морфологических структурах коррелирует со степенью способности запоминать информацию, а в мозжечке – со степенью посталкогольной атаксии [26]. Пептиды линии КК способствовали сохранению долговременной памяти животными на протяжении 14 сут после интоксикации, что может быть расценено как антиамнестический эффект препаратов. Кроме того, введение данных пептидов способствовало нормализации и потенцированию ассоциативных процессов выработки рефлексов, которое было выявлено в методике УРАИ, а также

ускорению восстановления подвижности и равновесия.

По результатам эксперимента было установлено, что исследуемые пептидные препараты обладают нейропротекторной активностью, сохраняющейся даже в соматогенную фазу и постинтоксикационный период. Помимо влияния на ключевые звенья токсикодинамики этанола в начале интоксикации, механизм действия КК и моликсана может быть результатом активации пептидного каскада и образования в ходе их метаболизма других функционально активных пептидов [23].

Проведенное исследование показало полифункциональный характер действия препаратов линии КК и моликсана, свойственный большинству регуляторных пептидов, с установленной способностью пептидов улучшать процессы обучения и памяти после интоксикации [23].

Выводы. 1. Этанол в дозе 1 ЛД₅₀ вызывает в токсикогенную стадию интоксикации нарушение неврологического статуса, витальных функций и гибель 44% животных, а в соматогенную стадию – нарушение памяти, процессов обучения, физической выносливости и координации движений.

2. Лечебное применение пептидов КК₁ и КК₁₀ предотвращает развитие комы, способствует поддержанию температуры тела и частоты дыхательных движений, увеличивает выживаемость до 100% и сокращает сроки восстановления нарушенных функций ЦНС крыс в 1,5-2 раза.

3. Лечебное применение моликсана при интоксикации этанолом в дозе 1 ЛД₅₀ увеличивает выживаемость животных до 88%, сокращает срок восстановления способности к обучению и физической деятельности в 1,5 раза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антушевич А. Е., Ярцева А. А., Гребенюк А. Н., Антонов В. Г. Влияние моликсана на активность окислительно-восстановительных процессов в слизистой оболочке полости рта экспериментальных животных при комбинированном химиолучевом воздействии. *Вестн. Росс. Воен.-мед. акад.* 2014; 1 (45): 152-155.
2. Бонитенко Е. Ю., Гребенюк А. Н., Башарин В. А., Иванов М. Б., Макарова Н. В. Оценка неврологического статуса при острой алкогольной интоксикации в эксперименте. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2010; 3: 300-303.
3. Бонитенко Ю. Ю., Нечипоренко С. П., ред. Острые отравления лекарственными и наркотическими веществами. СПб.: ЭЛБИ – СПб; 2010.
4. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Наука; 1992.
5. Головкин А. И. Механизмы фармакологической активности антидепрессивных средств, действующих на системы ГАМК и глутаминовой кислоты. *Биомед. журнал Medline.ru.* 2012, 14. Available at: http://www.medline.ru/public/pdf/13_014.pdf/ (дата обращения: 17.01.2015).
6. Головкин А. И. Отрезвляющие средства, изменяющие токсикодинамику этанола. *Биомед. химия.* 2013; 59 (6): 604-621.
7. Государственный доклад Федеральной службы по надзору в сфере

- защиты прав потребителей и благополучия человека «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2013 году». Available at: http://www.rosпотреbnadzor.ru/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya_sayta.pdf (дата обращения: 11.12.2014).
8. Гребенюк А. Н., Рейнюк В. Л., Халютин Д. А., Ховпачев А. А., Давыдова Е. В. Оценка эффективности пептидных препаратов в качестве средств коррекции нарушений функций центральной нервной системы, вызванных высокими дозами этанола. *Вестн. Росс. воен.-мед. акад.* 2014; 3 (47): 145-149.
9. Доклад Всемирной организации здравоохранения «Вопросы здравоохранения: алкоголь». Available at: http://www.who.int/topics/alcohol_drinking/ (дата обращения: 27.01.2015).
10. Доклад Федеральной службы государственной статистики «Продажа алкогольных напитков в регионах Российской Федерации». Available at: <http://www.gks.ru/dbscripts/cbsd/dbinet.cgi?pl=2705014> (дата обращения: 20.11.2014).
11. Ковалицкая Ю. А., Садовников В. Б., Золотарев Ю. А., Наволоцкая Е. В. Стресс-протекторная активность синтетического пептида CH₂CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH₂ (протектина). *Биоорг. химия.* 2009; 35 (4): 493-500.
12. Лисицкий Д. С., Петров А. Н., Шевчук М. К. Фармакологическая кор-

- рекция нейротоксических поражений у белых крыс после тяжелой формы острой алкогольной интоксикации. *Токс. вестник.* 2013; 1: 19-23.
13. Лужников Е. А., ред. Медицинская токсикология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
14. Наволоцкая Е. В., Колобов А. А., Кампе-Немм Е. А., Липкин В. М. Средство, обладающее антиишемической и антигипоксической активностью. Патент РФ, № 2356573; 2007.
15. Платонов А. Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. М.: Изд-во РАМН; 2000.
16. Прозоровский В. Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. 2007; 3-4: 2090 - 2120.
17. Маркизова Н. Ф., Епифанцев А. В., Башарин В. А. Молекулярный кислород и его активные формы в процессах токсикогенетики и токсикодинамики. СПб.: ВМедА; 2004.
18. Федеральная служба по регулированию алкогольного рынка «Потребление спиртных напитков». Available at: http://www.fsrar.ru/policy_of_sobriety/konceptcia (дата обращения: 20.11.2014).
19. Хабриев Р. У., ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005.
20. Jia X., Yan J., Xia J., Xiong J., Wang T., Chen Y. et al. Arousal effects of orexin

- A on acute alcohol intoxication-induced coma in rats. *Neuropharm.* 2012; 62 (2): 775-783.
21. Mathis K.W., Sulzer J., Molina P.E. Systemic administration of a centrally acting acetylcholinesterase inhibitor improves outcome from hemorrhagic shock during acute alcohol intoxication. *Shock.* 2010; 34 (2): 162-168.
22. Rico E.P., Rosemberg D.B., Senger M.R., de Bem Arizi M., Dias R.D., Souto A.A. et al. Ethanol and acetaldehyde alter NTPDase and 5'-nucleotidase from zebrafish brain membranes. *Neurochem. Int.* 2008; 52 (1-2): 290-296.
23. Sewald N., Jakubke H. Peptides: chemistry and biology. Wiley-VCH; 2002.
24. Shih-Jen T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4-10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome. *Med. Hyp.* 2007; 68: 1144-1146.
25. Sun Y.-P., Liu Q., Luo J., Guo P., Chen F., Lawrence A.J. et al. Systemic administration of arecoline reduces ethanol-induced sleeping through activation of central muscarinic receptor in mice. *Alc.: Clin and Exp Res.* 2010; 34 (1): 150-157.
26. Taslim N., Soderstrom K., Dar M.S. Role of mouse cerebellar nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) (4) (2)- and (7) subtypes in the behavioral cross-tolerance between nicotine and ethanol-induced ataxia. *Behav. Brain Res.* 2011; 217: 282-292.

REFERENCES:

1. Antushevich A.E., Jarceva A.A., Grebenjuk A.N., Antonov V.G. Vlijanie moliksana na aktivnost' oksiditel'no-vosstanovitel'nyh processov v slizистой оболочке полости рта jeksperimental'nyh zhivotnyh pri kombinirovannom himiолучевом vozdejstvii. *Vestn. Ross. Voен.-med. akad.* 2014; 1 (45): 152-155. (in Russian)
2. Bonitenko E.Ju., Grebenjuk A.N., Basharin V.A., Ivanov M.B., Makarova N.V. Ocenka nevrologicheskogo statusa pri ostroj alkohol'noj intoksikacii v jeksperi-

- mente. *Bjull. jeksper. biol. i med.* 2010; 3: 300-303. (in Russian)
3. Bonitenko Ju.Ju., Nechiporenko S.P., red. Ostrye otravlenija lekarstvennymi i narkoticheskimi veshhestvami. SPb.: JeLBI – SPb; 2010. (in Russian)
4. Buresh Ja., Bureshova O., H'juston Dzh. P. Metodiki i osnovnye jeksperimenty po izucheniju mozga i povedenija. M.: Nauka; 1992. (in Russian)
5. Golovko A.I. Mehanizmy farmakologicheskoy aktivnosti antideprimirujush-

- hih sredstv, dejstvujushih na sistemy GAMK i glutaminovoj kisloty. *Biomed. zhurnal Medline.ru.* 2012, 14. Available at: http://www.medline.ru/public/pdf/13_014.pdf/ (data obrashhenija: 17.01.2015). (in Russian)
6. Golovko A.I. Otrezvljajushhie sredstva, izmenjajushhie toksidinamiku jetanola. *Biomed. himija.* 2013; 59 (6): 604-621. (in Russian)
7. Gosudarstvennyj doklad Federal'noj sluzhby po nadzoru v sfere zashhity prav

- potrebitelej i blagopoluchija cheloveka «O sostojanii sanitarno-jepidemiologicheskogo blagopoluchija naselenija Rossijskoj Federacii v 2013 godu». Available at: http://www.rosпотреbnadzor.ru/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya_sayta.pdf (data obrashhenija: 11.12.2014). (in Russian)
8. Grebenjuk A.N., Rejnjuk V.L., Haljutin D.A., Hovpachev A.A., Davydova E.V. Ocenka jeffektivnosti peptidnyh preparatov v kachestve sredstv korekcii narushenij

- funkcij central'noj nervnoj sistemy, vyzvannyh vysokimi dozami jetanola. Vestn. Ross. voen.-med. akad. 2014; 3 (47): 145–149. (in Russian)
9. Doklad Vsemimoy organizacii zdravoohraneniya «Voprosy zdravoohraneniya: alkohol». Available at: http://www.who.int/topics/alcohol_drinking/ru/ (data obrashheniya: 27.01.2015). (in Russian)
10. Doklad Federal'noj sluzhby gosudarstvennoj statistiki «Prodazha alkohol'nyh napitkov v regionah Rossijskoj Federacii». Available at: <http://www.gks.ru/dbscripts/cbsd/dbi-net.cgi?pi=2705014> (data obrashheniya: 20.11.2014). (in Russian)
11. Kovalickaja Ju.A., Sadovnikov V.B., Zolotarev Ju.A., Navolockaja E.V. Stress-protektornaja aktivnost' sinteticheskogo peptida CH3CO-Lys-Lys-Arg-Arg-NH2 (protektina). Bioorg. himija. 2009; 35 (4): 493–500. (in Russian)
12. Lisickij D.S., Petrov A.N., Shevchuk M.K. Farmakologicheskaja korekciya nejrotoksicheskikh porazhenij u belyh krysov posle tjazholoj formy ostroj alkohol'noj intoksikacii. Toks. vestnik. 2013; 1: 19–23. (in Russian)
13. Luzhnikov E.A., red. Medicinskaja toksikologija: nacional'noe rukovodstvo. M.: GJeOTAR-Media; 2012. (in Russian)
14. Navolockaja E.V., Kolobov A.A., Kampe-Nemm E.A., Lipkin V.M. Sredstvo, obladajushhee antiishemicheskij i antigipoksicheskij aktivnost'ju. Patent RF, № 2356573; 2007. (in Russian)
15. Platonov A.E. Statisticheskij analiz v medicine i biologii: zadachi, terminologija, logika, komp'juternye metody. M.: Izd-vo RAMN.; 2000. (in Russian)
16. Prozorovskij V.B. Statisticheskaja obrabotka rezul'tatov farmakologicheskikh issledovanij. 2007; 3–4: 2090 – 2120. (in Russian)
17. Markizova N.F., Epifancev A.V., Basharin V.A. Molekuljarnyj kislorod i ego aktivnye formy v processah toksikokinetiki i toksikodinamiki. SPb.: VMedA; 2004. (in Russian)
18. Federal'naja sluzhba po regulirovaniyu alkohol'nogo rynka «Potreblenie spirtnyh napitkov». Available at: http://www.fsrar.ru/policy_of_sobriety/konceptia (data obrashheniya: 20.11.2014). (in Russian)
19. Habriev R.U., red. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. M.: Medicina; 2005. (in Russian)
20. Jia X., Yan J., Xia J., Xiong J., Wang T., Chen Y. et al. Arousal effects of orexin A on acute alcohol intoxication-induced coma in rats. Neuropharm. 2012; 62 (2): 775–783.
21. Mathis K.W., Sulzer J., Molina P.E. Systemic administration of a centrally acting acetylcholinesterase inhibitor improves outcome from hemorrhagic shock during acute alcohol intoxication. Shock. 2010; 34 (2): 162–168.
22. Rico E.P., Rosemberg D.B., Senger M.R., de Bem Ariz M., Dias R.D., Souto A.A. et al. Ethanol and acetaldehyde alter NTPDase and 5'-nucleotidase from zebrafish brain membranes. Neurochem. Int. 2008; 52 (1–2): 290–296.
23. Sewald N., Jakubke H. Peptides: chemistry and biology. Willey-VCH; 2002.
24. Shih-Jen T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4–10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome. Med. hyp. 2007; 68: 1144–1146.
25. Sun Y.-P., Liu Q., Luo J., Guo P., Chen F., Lawrence A.J., et al. Systemic administration of arecoline reduces ethanol-induced sleeping through activation of central muscarinic receptor in mice. Alc.: Clin and Exp Res. 2010; 34 (1): 150–157.
26. Taslim N., Soderstrom K., Dar M.S. Role of mouse cerebellar nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) (4) (2)- and (7) subtypes in the behavioral cross-tolerance between nicotine and ethanol-induced ataxia. Behav. Brain Res. 2011; 217: 282–292.

D.A. Halyutin¹, A.A. Hovpachev¹, A.N. Grebenyuk¹, V.L. Reynyuk¹, A.E. Antushevich¹, A.A. Kolobov²

Therapeutic efficacy of new neuropeptides and hepatoprotector molixan at acute poisonings with ethanol

¹Federal State Budgetary Military Educational Establishment of Higher Professional Education «S.M. Kirov Military Medical Academy», RF Ministry of Defense, 194044, Saint Petersburg, Russian Federation

²Federal State Unitary Institution «State Research Institute of Pure Biopreparations», Federal Medical and Biological Agency of Russia, 197110, Saint Petersburg, Russian Federation.

A comparative assessment of new peptide drugs with a common molecular structure Acetyl-Lys-Lys-Arg-Arg-amide (index KK) and molixan as correction means for CNS functional disorders evolving in toxicogenic and somatogenic stages in ethanol-intoxicated rats is presented. 40% ethanol was delivered intragastrically in a dose of 1 LD₅₀ (8 g/kg). Peptides KK₁ and KK₁₀ were administered intranasally in a dose of 40 mg/kg, molixan has been injected intraabdominally in a single dose of 30 mg/kg, 30 min. after the intoxication onset. It was found out that 1 LD₅₀ dose of ethanol delivered to rats at the intoxication toxicogenic stage disturbs the neurological status and also leads to their 44% death and delivered at the somatogenic stage, ethanol causes impairments in survived rats memory, ability to training and physical activity over two weeks after intoxication onset. When acute alcohol intoxication was corrected with peptide preparations KK₁ and KK₁₀, the rats survival was 100% and 88% when molixan was used. Along with it, the therapeutic introduction of KK₁ and KK₁₀ peptides allowed to avoid the emergency of states classified as “coma” and posed anti-amnesic effect. The use of KK line peptides and molixan accelerates restoration rates of learning ability, physical endurance and motor coordination in poisoned animals by 1.5–2 times.

Keywords: ethanol, poisoning, treatment, peptides, survival, central nervous system function.

Переработанный материал поступил в редакцию 18.03.2015 г.

УДК 615.03-615.099

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОБЩЕТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА АДЕЛАКТ™ НА ГРЫЗУНАХ

Р.И. Якубовская¹, А.А. Панкратов¹, Т.Н. Андреева¹,
Ю.Б. Венедиктова¹, О.А. Безбородова¹,
И.Л. Тутыхина², Е.В. Евграфов², Д.Ю. Логунов²,
М.М. Шмаров²

¹ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125284, г. Москва, Российская Федерация

²ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123098, г. Москва, Российская Федерация

Препарат АдеЛакт™ представляет собой рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы, экспрессирующие ген лактоферрина человека. Проведено изучение «острой» токсичности препарата на мышах и крысах и «субхронической» токсичности – на крысах и кроликах. Препарат АдеЛакт™ по степени опасности «острого» токсического действия классифицирован как «малоопасное лекарственное средство», а по степени опасности «хронического/субхронического» токсического действия – как «умеренно опасное лекарственное средство». Препарат АдеЛакт™ в токсических дозах оказывал умеренное гепато- и нефротропное действие. Возможно развитие воспалительного процесса в легких. Препарат АдеЛакт™ при внутривенном применении обладает слабовыраженным и полностью обратимым местнораздражающим действием.

Ключевые слова: препарат АдеЛакт™, ген лактоферрина человека, лактоферрин человека, аденовирус 5-го серотипа, общетоксические свойства, «острая» токсичность, «субхроническая» токсичность.

Введение. Лактоферрин человека - одноцепочечный металлсвязывающий гликопротеин, относящийся к семейству трансферринов, с молекулярной массой 78±2 kDa. Лактоферрин содержится во всех эпителиальных секретах человека и выполняет в организме защитную функцию. Он обладает антиоксидантными, детоксицирующими и противовоспалительными свойствами, проявляет иммуномодулирующее действие, широкий спектр антибактериальной, антивирусной и фунгицидной активности [1].

На основе природного Лф человека, выделенного из женского молока, разработан и

зарегистрирован препарат «Лапрот» (рег. № ЛС-002374) для лечения токсических состояний, обусловленных различными заболеваниями, в частности, гнойно-воспалительными, септическими и другими [2,3]. Однако при поступлении в кровоток в составе препарата лактоферрин быстро элиминируется из организма, и для поддержания терапевтически эффективной концентрации требуется его систематическое введение пациентам. Поэтому актуальной является разработка лекарственных средств на основе лактоферрина человека с пролонгированным терапевтическим действием.

Якубовская Раиса Ивановна (Yakubovskaya Raisa Ivanovna), доктор биологических наук, профессор, руководитель отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, raisayakub@yandex.ru
Панкратов Андрей Александрович (Pankratov Andrey Alexandrovich), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, andreimnioi@yandex.ru
Андреева Татьяна Николаевна (Andreeva Tatyana Nikolaevna), младший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, 7102929@mail.ru
Венедиктова Юлия Борисовна (Venediktova Julia Borisovna), младший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, uluaz@yandex.ru
Безбородова Ольга Алексеевна (Bezborodova Olga Alexeevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, olgabezborodova@yandex.ru
Тутыхина Ирина Леонидовна (Tutykhina Irina Leonidovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, their@yandex.ru
Евграфов Евгений Валерьевич (Evgrafov Evgeniy Valer'evich), младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, evgeniyevgrafov@yandex.ru
Логунов Денис Юрьевич (Logunov Denis Yur'evich), доктор биологических наук, заведующий лабораторией клеточной микробиологии ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, ldenisy@yahoo.com
Шмаров Максим Михайлович (Shmarov Maxim Mihailovich), доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биотехнологии ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, mmshmarov@gmail.com

Пролонгация терапевтического действия лактоферрина может быть достигнута путем введения в организм не непосредственно белка, а вирусного вектора на основе аденовируса человека 5-го серотипа, в состав генома которого включен ген лактоферрина человека. Рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы, экспрессирующие ген лактоферрина человека, были сконструированы в ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава РФ, на основе этой конструкции ООО «НТФарма» совместно с ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» был разработан и изучен в доклинических исследованиях препарат АдеЛакт™ (раствор для внутривенного введения, представляет собой слегка опалесцирующую жидкость, содержащую рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы размером 70-80 нм, в концентрации $2,3 \times 10^{11}$ в 1 мл, экспрессирующие ген лактоферрина человека). Препарат АдеЛакт™ для оценки общетоксических свойств был произведен ООО «ИММАФАРМА» [4-7].

У человека предполагаемый курс лечения будет состоять из однократного введения препарата в дозе, равной $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м² (или $7,00 \times 10^{11}$ частиц на человека). Повторные курсы будут проводиться по показаниям не ранее чем через 4 недели.

Целью настоящего исследования являлось изучение общетоксических свойств препарата АдеЛакт™ для его последующего внедрения в клиническую практику.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на мышах-гибридах F1 (СВАхС57В1/6), самцах и самках, массой 18 - 21 г (n=72), неинбредных белых крысах самцах и самках, массой 208 - 220 г (n=117) и кроликах породы «Советская шиншилла» самцах, массой 2,4 - 2,6 кг (n=47). Мыши и крысы были получены из Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России (филиал «Андреевка»), а кролики – из ООО «Кролинфо». Мыши, крысы и кролики содержались в отдельных комнатах клиники экспериментальных животных ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России. Условия содержания и обращение с используемыми в эксперименте животными соответствовало Приказу МЗ РФ № 708н от 23 августа 2010г. «Об утверждении Правил лабораторной практики» и Директиве Совета ЕС от 24 ноября 1986 «О сближении законов, постановлений и административных положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС)».

При выборе доз препарата для токсикологических исследований исходили из доз препарата АдеЛакт™, которые были отобраны при изучении его фармакологических свойств на животных с тяжелой экзогенной интоксикацией, вызванной

введением токсических и смертельных доз высокотоксичных противоопухолевых препаратов. Установлено, что однократное внутривенное введение препарата АдеЛакт™ мышам и крысам в терапевтической дозе, равной $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м², индуцировало у животных выработку целевого белка – лактоферрина человека, обладающего мощным детоксицирующим потенциалом: у животных наблюдали снижение смертности от летальных доз цитостатиков, а также уменьшение степени выраженности и длительности сохранения специфических симптомов интоксикации.

При изучении «острой» токсичности препарата АдеЛакт™ на грызунах (мышам и крысам; опытные и контрольные группы состояли из 6 животных) его терапевтическая доза (ТД), выраженная в количестве псевдоаденовирусных частиц на м² поверхности тела животного (дозы лекарственных средств, рассчитанные на площадь поверхности тела для различных видов животных и человека, являются эквивалентными по токсичности), равная $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м², была увеличена в 10, 50, 100 и 200 раз. Превышение ТД в 10 - 200 раз достаточно для получения достоверной информации о токсикологической безопасности исследуемого лекарственного средства. Наблюдение за животными проводили в течение 30 суток. У животных регистрировали клинические признаки возможной интоксикации, гибель от токсичности, сроки гибели, изменение массы тела. Для оценки повреждающего действия препарата на внутренние органы и ткани каждое животное было подвергнуто аутопсии. При аутопсии детально исследовали внешнее состояние тела, полость черепа, грудную и брюшную полости с органами и тканями, шею с органами и тканями и скелетно-мышечную систему.

«Субхроническую» токсичность препарата изучали на крысах (опытные и контрольные группы состояли из 15 животных) и кроликах (опытные и контрольные группы состояли из 9 животных) при ежедневном в течение 5-и дней введении препарата АдеЛакт™ крысам в суммарных дозах, равных $43,0 \times 10^{11}$ и $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² (соответствующих 1/5МПД и 2МПД при однократном применении препарата; исследованные дозы превышали расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 и 100 раз), а кроликам - в суммарных дозах, равных $43,0 \times 10^{11}$ и $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м² (превышали расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 и 50 раз).

Программа экспериментов включала интегральные, гематологические, биохимические, физиологические и патолого-анатомические исследования в соответствии с методическими рекомендациями по изучению общетоксического действия лекарственных средств [8].

Токсическое действие препарата на сердце

оценивали с использованием макро- и микроскопических (гистологических) методов исследования в сроки проведения плановой аутопсии животных.

Влияние на ЦНС оценивали по поведенческим реакциям животных. Оценивали рефлексы «позы», «походки», атаксию, реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители. Состояние вегетативных эффектов оценивали по величине зрачка (миоз, мидриаз), наличию или отсутствию экзофтальма. Фиксировали все патологические изменения в поведении и клиническом состоянии животных.

Эвтаназию мышей и крыс проводили путем передозировки эфира для наркоза, а кроликов – путем внутривенного введения тиопентала натрия в количестве 200 мг на животное.

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica ver. 7.0. Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m). Достоверность отличий между группами данных оценивали с применением t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна Уитни, в зависимости от числа наблюдений и характера распределения величин параметров в группе. Различия считали достоверными при $P < 0.05$.

Результаты и обсуждение.

«Острая» токсичность препарата АдеЛакт[™]

Препарат АдеЛакт[™] при однократном внутривенном введении мышам (самцам и самкам) в дозах от $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м² до 430×10^{11} частиц/м² был удовлетворительно перенесен животными. Гибель мышей от токсичности отсутствовала. При использовании препарата в дозе, равной 860×10^{11} частиц/м², была зафиксирована гибель мышей от токсического действия препарата, которая составила в группе мышей-самцов 33%, а в группе мышей-самок – 17% (табл.1).

При аутопсии макроскопические изменения во внутренних органах и тканях были выявлены только у погибших животных, которые получили препарат в максимальной дозе, равной 860×10^{11} частиц/м². У этих мышей наблюдали полнокровие печени и селезенки.

Крысы оказались более чувствительным видом животных к токсическому действию препарата АдеЛакт[™] чем мыши (табл. 1 и 2). Так, при однократном внутривенном введении препарата АдеЛакт[™] крысам (самцам и самкам) в дозах от $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м² до $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м² гибель животных от токсичности отсутствовала. У этих животных наблюдали внешние проявления интоксикации в виде адинамии или гиподинамии. В

Таблица 1

Гибель мышей от токсичности после однократного внутривенного введения препарата АдеЛакт[™] мышам («острая» токсичность)

Исследуемый препарат или контрольное вещество	Доза препарата частиц/м ²	Общее количество животных	Гибель животных от токсичности		
			всего погибло	%	сроки гибели, сутки
Самцы					
АдеЛакт [™]	$4,3 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$43,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$215,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$430,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$860,0 \times 10^{11}$	6	2	33	2 и 9
0,9% раствор NaCl	25 мл/кг	6	0	0	-
Самки					
АдеЛакт [™]	$4,3 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$43,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$215,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$430,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$860,0 \times 10^{11}$	6	1	17	13
0,9% раствор NaCl	25 мл/кг	6	0	0	-

течение 48 часов после введения препарата крысы были вялыми и слабо реагировали на внешние раздражители (звуковые, тактильные, болевые). При использовании препарата в дозах, равных $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $860,0 \times 10^{11}$ частиц/м², наблюдали гибель крыс от токсического действия препарата, которая колебалась (в зависимости от дозы и пола животных) от 17% до 50% (табл.2).

При вскрытии крыс, погибших в первые сутки после введения препарата АдеЛакт™ в летальных дозах, отмечали увеличенные в размере и плотные легкие (отечные) с точечными кровоизлияниями, увеличенную полнокровную селезенку, точечные кровоизлияния в почки и диффузное кровотечение в толстом отделе кишечника.

«Субхроническая» токсичность препарата АдеЛакт™

Многочисленное (ежедневно в течение 5-и дней) внутривенное введение препарата АдеЛакт™ крысам в суммарных дозах, равных $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и кроликам – в суммарных дозах, равных $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м², было удовлетворительно перенесено животными: гибель от токсичности отсутствовала.

Препарат АдеЛакт™ в исследованных дозах не вызывал изменений интегральных показа-

телей у крыс и кроликов (потребление пищи, воды, поведенческие реакции). При использовании препарата АдеЛакт™ у крыс в суммарной дозе $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² было зафиксировано два пика снижения массы тела – на 3 и 14 сутки после последнего введения препарата. У кроликов, при использовании препарата в суммарной дозе $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м², достоверное снижение массы тела было отмечено в течение 10 суток после последнего введения препарата (табл. 3).

После многократного внутривенного применения препарата АдеЛакт™ крысам в суммарных дозах $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и кроликам в суммарных дозах $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м², по данным клинико-лабораторных и патологоанатомических (аутопсия с макроскопической оценкой состояния внутренних органов и тканей) исследований, у животных не выявлено существенных изменений, которые свидетельствовали бы о токсическом действии препарата на кровь, сердце, почки, органы ЖКТ и ЦНС. Препарат не оказывал негативного влияния на углеводный и липидный обмен у животных. При использовании препарата в максимально исследованной дозе у крыс отмечали транзиторное, умеренное нарушение барьерной функции печени, сопровождающееся увеличением уровня АЛТ в сыворотке крови

Таблица 2

Гибель крыс от токсичности после однократного внутривенного введения препарата АдеЛакт™ крысам («острая» токсичность)

Исследуемое ЛС или контрольное вещество	Доза препарата частиц/м ²	Общее количество животных	Гибель животных от токсичности		
			всего погибло	%	сроки гибели, сутки
Самцы					
АдеЛакт™	$4,3 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$43,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$215,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$430,0 \times 10^{11}$	6	2	33	1, 20
АдеЛакт™	$860,0 \times 10^{11}$	6	2	33	1
0,9% раствор NaCl	10 мл/кг	6	0	0	-
Самки					
АдеЛакт™	$4,3 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$43,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$215,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$430,0 \times 10^{11}$	6	1	17	1
АдеЛакт™	$860,0 \times 10^{11}$	6	3	50	1
0,9% раствор NaCl	10 мл/кг	6	0	0	-

в 2 раза, а у кроликов – транзиторное, умеренное нарушение белоксинтезирующей функции печени, сопровождающееся статистически достоверным снижением количества альбумина в сыворотке крови в 1,4 раза (табл. 4 и 5).

При гистологическом исследовании внутренних органов и тканей крыс после многократного применения препарата АдеЛакт™ в суммарной дозе, равной $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м², у отдельных крыс отмечали неглубокие очаговые и полностью обратимые дистрофические изменения в печени, деструктивно-воспалительные изменения в почках и воспалительные изменения в легких. При увеличении суммарной дозы препарата до $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м², у животных наблюдали неглубокие и очаговые дистрофические изменения в печени и деструктивные и/или воспалительные изменения в почках и сердце (миокарде) отдельных крыс. При использовании этой дозы препарата отмечено повышенное содержание в синусоидах печени лимфоцитов и клеток РЭС (клетки Купфера и эндотелиоциты). Выявленные морфологические изменения в сердце крыс были полностью обратимы, а в печени и почках – частично обратимы.

При гистологическом исследовании внутренних органов и тканей кроликов после многократного применения препарата АдеЛакт™ в суммарной дозе, равной $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м², у отдельных кроликов наблюдали изменения в тимусе (высокое содержание лимфоцитов), селезенке (слияние крупных лимфатических фолликулов, что, по-видимому, связано с повышенной пролиферацией лимфоцитов), щитовидной железе (по-

вышенное содержание интрафолликулярной ткани), печени (умеренные дистрофические изменения гепатоцитов), сердце и почках (умеренные воспалительные или дистрофические изменения). Выявленные патологические изменения в щитовидной железе, тимусе, сердце и почках кроликов были полностью обратимы (срок обратимости – 30 суток). Морфологические изменения в ткани печени и селезенке были не полностью обратимы: к 30 суткам наблюдения они имели тенденцию к обратимости и носили умеренно выраженный характер. При использовании препарата в суммарной дозе, равной $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м², у отдельных животных наблюдали морфологические особенности или изменения в легких (следы бронхоолита), печени (дистрофические изменения некоторых гепатоцитов, повышенное содержание лейкоцитов в синусоидах), тимусе (повышенное содержание лимфоцитов), селезенке (слияние крупных лимфатических фолликулов), щитовидной железе (повышенное содержание интрафолликулярной ткани), сердце и почках (воспалительные или дистрофические изменения). Выявленные изменения в щитовидной железе, сердце и легких были полностью обратимы (период обратимости – 30 суток), а в тимусе, печени, селезенке и почках – сохранялись.

На крысах суммарная доза препарата АдеЛакт™ при его многократном внутривенном применении, равная $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м², превышающая расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 раз, охарактеризована как низкая токсическая доза (НТД), а доза препарата, равная

Таблица 3

Гибель от токсичности и изменение массы крыс и кроликов после 5-кратного внутривенного введения препарата АдеЛакт™ («субхроническая» токсичность)

Доза препарата АдеЛакт™, частиц/м ²		Гибель от токсичности, %	Масса тела животных, сутки после последнего введения препарата						
разовая	суммарная		фон	3	7	10	14	21	30
КРЫСЫ									
$8,6 \times 10^{11}$	$43,0 \times 10^{11}$	0	214±2	246±6	226±15	265±10	264±12	274±19	260±31
$86,0 \times 10^{11}$	$430,0 \times 10^{11}$	0	215±2	219±12*	251±5	252±18	226±23*	271±26	265,4±34
Контроль; изотонический (0,9%) раствор хлористого натрия									
5 мл/кг	25 мл/кг	0	213±2	234±8	243±7	266±9	273±11	299±15	311±17
КРОЛИКИ									
$8,6 \times 10^{11}$	$43,0 \times 10^{11}$	0	2553±34	2595±37	2638±31	2715±9	2770±62	2807±49	2932±68
$43,0 \times 10^{11}$	$215,0 \times 10^{11}$	0	2473±37	2318±45*	2323±79*	2467±92*	2540±11	2703±50	2960±45
Контроль; изотонический (0,9%) раствор хлористого натрия									
5 мл/кг	25 мл/кг	0	2600±115	2640±106	2697±91	2733±69	2770±70	2837±59	3013±109

* - отличия между опытной и контрольной группой статистически достоверны при $p < 0.05$.

430,0x10¹¹ частиц/м², превышающая расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 100 раз – как высокая токсическая доза (ВТД, соответствует МПД:). На кроликах суммарная доза препарата АдеЛакт™ при его многократном внутривенном введении, равная 43,0x10¹¹ частиц/м², превышающая расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 раз, охарактеризована как умеренно токсическая доза (УТД), а доза препарата, равная 215,0x10¹¹ частиц/м², пре-

вышающая расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 50 раз – как ВТД.

При сопоставлении данных, полученных при изучении «субхронической» и «острой» токсичности на крысах, рассчитан индекс кумуляции препарата АдеЛакт™ (Ik, [9]) при его внутривенном введении, который составил величину, равную -12,5%, что свидетельствует об отсутствии кумулятивных свойств у препарата и обратимости его токсических эффектов.

Таблица 4

Биохимические показатели сыворотки крови крыс после 5-кратного внутривенного введения препарата АдеЛакт™

Доза разовая/суммарная, частиц/м ²	Орган	Сутки после введения препарата		
		3	14	30
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	АЛТ (Е/л)	68,0±9,8	46,4±6,4	88,8±10,5
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		108,6±13,1*	46,6±5,7	75,6±19,0
0,9% раствор NaCl		51,4±9,0	33,0±5,9	67,4±5,8
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	АСТ (Е/л)	188,0±21,3	143,0±8,0	165,4±11,9
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		161,6±16,8	135,2±9,9	184,0±21,1
0,9% раствор NaCl		159,2±21,1	143,6±7,3	155,4±13,0
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	ЩФ (Е/л)	304,8±29,4	363,2±33,6	259,4±42,1
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		361,4±27,0	300,8±27,7	226,2±82,7
0,9% раствор NaCl		311,0±9,4	316,0±11,6	287,0±18,9
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Билирубин Общий (мкмоль/л)	5,3±1,2	4,0±0,9	2,9±0,4
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		4,3±1,0	3,4±0,4	3,2±0,6
0,9% раствор NaCl		5,3±0,9	3,2±0,3	4,3±0,8
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Мочевина (ммоль/л)	7,7±0,3	7,6±0,8	8,1±0,5
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		8,3±0,5	7,7±0,6	8,1±0,5
0,9% раствор NaCl		7,4±0,3	7,0±0,9	7,7±0,5
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Креатинин (мкмоль/л)	73,2±6,8	55,0±3,5	75,8±9,2
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		86,6±17,6	71,4±6,4	68,0±7,6
0,9% раствор NaCl		69,4±7,4	62,8±3,3	89,8±8,1
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Общий белок (г/л)	81,8±12,7	63,6±3,1	82,2±8,7
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		77,8±6,7	62,8±6,8	84,8±6,4
0,9% раствор NaCl		77,6±6,3	78,6±9,8	76,4±8,6
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Альбумин (г/л)	48,0±2,9	32,0±2,6	38,8±6,2
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		42,0±3,7	31,4±3,2	36,2±2,4
0,9% раствор NaCl		44,4±5,8	41,0±3,8	38,6±2,7
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Глюкоза (ммоль/л)	8,0±0,4	3,9±0,3	5,5±0,8
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		7,5±0,5	4,9±0,7	5,7±0,2
0,9% раствор NaCl		6,9±0,2	5,8±0,6	6,1±0,7
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Холестерин (ммоль/л)	2,5±0,4	1,6±0,2	1,8±0,4
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		2,6±0,2	1,6±0,2	1,6±0,2
0,9% раствор NaCl		1,8±0,1	1,5±0,2	1,7±0,3

* - отличия между опытной и контрольной группой статистически достоверны при p<0.05.

Биохимические показатели сыворотки крови кроликов после 5-кратного внутривенного введения препарата АдеЛакт™

Доза разовая/суммарная, частиц/мл	Орган	Сутки после введения препарата			
		фон	3	14	30
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	АЛТ (Е/л)	53,3±6,2	42,3±7,5	52,3±4,3	52,3±8,0
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		51,7±12,2	72,0±20,0	44,7±5,8	48,7±6,6
0,9% раствор NaCl		61,7±15,4	55,0±16,4	68,7±9,0	51,0±7,1
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	АСТ (Е/л)	35,0±4,6	32,3±6,8	68,3±7,5	42,3±1,3
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		37,0±9,3	60,0±12,3	68,3±13,8	36,0±5,5
0,9% раствор NaCl		48,6±4,5	48,7±9,7	63,7±15,3	42,7±4,5
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	ЩФ (Е/л)	165,3±20,5	224,0±30,6	137,7±33,8	205,7±52,3
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		175,0±10,4	153,3±52,0	154,3±39,3	158,3±26,0
0,9% раствор NaCl		141,7±20,5	151,0±17,5	139,3±10,3	161,7±34,8
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Билирубин Общий (мкмоль/л)	3,5±0,5	3,8±0,6	3,3±0,3	3,6±0,8
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		4,3±0,7	4,6±0,9	3,6±0,3	3,6±0,3
0,9% раствор NaCl		4,0±0,7	3,7±0,6	4,4±0,3	4,3±0,6
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Мочевина (ммоль/л)	4,8±0,3	5,5±1,1	6,9±1,3	6,2±0,8
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		5,0±0,6	3,9±0,4	6,1±0,6	5,4±0,2
0,9% раствор NaCl		5,9±0,7	4,7±0,1	6,1±1,2	7,3±1,0
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Креатинин (мкмоль/л)	150,0±8,5	147,7±14,7	177,0±16,0	177,3±14,7
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		137,3±3,8	137,7±15,4	177,0±24,4	186,7±17,7
0,9% раствор NaCl		137,3±10,7	130,7±16,7	145,0±9,2	148,7±7,5
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Общий белок (г/л)	74,7±5,9	82,7±4,6	66,7±4,7	60,0±1,2
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		60,7±3,3	43,7±3,8	63,7±2,7	93,7±11,3
0,9% раствор NaCl		65,3±11,9	72,7±22,2	65,3±4,4	92,7±4,7
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Альбумин (г/л)	49,7±4,1	45,7±2,4	44,7±2,7	35,3±2,3
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		35,7±2,7	24,3±4,8*	51,0±5,1	51,0±4,4
0,9% раствор NaCl		42,3±10,3	35,0±1,7	45,0±3,6	47,3±2,0
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Глюкоза (ммоль/л)	4,9±0,2	6,7±0,5	7,7±0,3*	3,4±0,1
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		4,6±0,8	5,0±0,7	7,5±0,4*	4,5±0,6
0,9% раствор NaCl		4,1±0,6	4,5±0,5	4,7±0,3	4,2±0,2
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Холестерин (ммоль/л)	2,0±0,3	2,5±0,6	1,6±0,3	2,1±0,4
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		1,8±0,3	2,0±0,8	2,0±0,2	2,0±0,3
0,9% раствор NaCl		2,0±0,2	2,1±0,2	1,8±0,3	1,5±0,2

* - отличия между опытной и контрольной группой статистически достоверны при p<0.05.

При изучении местнораздражающего действия препарата АдеЛакт™, на 3 сутки после его однократного внутривенного введения в концентрации 2,3x10¹¹ частиц в мл вены у всех кроликов (n = 5) были расширены с небольшим содержанием крови. У всех животных отмечено некоторое выбухание кожи над сосудом. При гистологическом исследовании у 4-х кроликов патологических изменений стенки вены и окружающих тка-

ней не обнаружено. У одного кролика отмечен небольшой отек - выход плазмы в стенку вены и окружающую подкожную ткань.

На 14 сутки после внутривенного введения препарата АдеЛакт™ у всех кроликов (n=5) просвет вены был не расширен и содержал небольшое количество крови. Признаков отека или иных патологических изменений в стенке вены и окружающих тканей не выявлено.

Заключение. Препарат АдеЛакт™ по степени опасности «острого» токсического действия может быть классифицирован как «малоопасное лекарственное средство», а по степени опасности «хронического/субхронического» токсического действия – как «умеренно опасное лекарственное средство». Препарат в дозах, превышающих расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 раз, не оказывал существенного влияния на

функцию и структуру органов и тканей лабораторных животных. В больших дозах, превышающих расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 50 – 100 раз, возможно умеренное гепато- и нефротропное действие. Возможно развитие воспалительного процесса в легких. Внутреннее введение препарата АдеЛакт™ оказывало слабо выраженное и полностью обратимое местно-раздражающее действие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gonzalez-Chavez SA, Arevalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. *Int J Antimicrob Agents*. 2009. V. 33. N4. P. 301e1-8.
- Немцова Е.Р., Эделева Н.В., Осипова Н.А., Якубовская Р.И., Бойко А.В., Демидова Л.В., Чиссов В.И. *Российский онкологический журнал*. 2006. № 4. С. 29-33.
- Чиссов В.И., Якубовская Р.И., Немцова Е.Р., Осипова Н.А., Эделева Н.В., Уткин М.М., Звягин А.А. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2008. № 11. С. 14-19.
- Народицкий Б.С., Шмаров М.М., Логунов Д.Ю., Тутькина И.Л., Токарская Е.А., Чиссов В.И., Якубовская Р.И., Немцова Е.Р., Безбородова О.А. Способ получения рекомбинантного лактоферрина человека. Российский патент № 2340676, 2008.
- Tutykhina I., Bezborodova O., Shmarov M., Logunov D., Nemtsova E., Yakubovskaya R., Naroditskiy V., Gintsburg A. Protein expression purification. 2009. V. 65. N1. P. 100-107.
- Тутькина И.Л., Безбородова О.А., Верховская Л.В., Шмаров М.М., Логунов Д.Ю., Немцова Е.Р., Народицкий Б.С., Якубовская Р.И., Гинцбург А.Л. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2009. Т.1. С. 27-31.
- Якубовская Р.И., Безбородова О.А., Немцова Е.Р., Тутькина И.Л., Шмаров М.М., Логунов Д.Ю., Народицкий Б.С., Чиссов В.И., Гинцбург А.Л. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2010. Т. 2. С. 28-33.
- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, под редакцией Р.У.Хабриева, М. «Медицина», 2005, 832с.
- Методы экспериментальной химиотерапии, практическое руководство, под редакцией Г.Н.Першина, М. «Медицина», 1971, 541 с.

REFERENCES:

- Gonzalez-Chavez SA, Arevalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. *Int J Antimicrob Agents*. 2009. V. 33. N4. P. 301e1-8.
- Nemtsova E.R., Edeleva N.V., Osipova N.A., Yakubovskaya R.I., Boiko A.V., Demidova L.V., Chissov V.I. *Russian Journal of Oncology*. 2006. # 4. P. 29-33 (in Russian).
- Chissov V.I., Yakubovskaya R.I., Nemtsova E.R., Osipova N.A., Edeleva N.V., Utkin M.M., Zvyagin A.A. *Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova (Surgery)*. 2008. #11. P. 14-19 (in Russian).
- Naroditskiy B.S., Shmarov M.M., Logunov D.Yu., Tutykhina I.L., Tokarskaya E.A., Chissov V.I., Yakubovskaya R.I., Nemtsova E.R., Bezborodova O.A. Method for Production of Recombinant Human Lactoferrin. Russian Patent # 2340676, 2008 (in Russian).
- Tutykhina I., Bezborodova O., Shmarov M., Logunov D., Nemtsova E., Yakubovskaya R., Naroditskiy V., Gintsburg A. Protein expression purification. 2009. V. 65. N1. P. 100-107.
- Tutykhina I.L., Bezborodova O.A., Verkhovskaya L.V., Shmarov M.M., Logunov D.Yu., Nemtsova E.R., Naroditskiy B.S., Yakubovskaya R.I., Ginzburg A.L. *Molecular Genetics, Microbiology & Virology*. 2009. V. 1. P. 27-31 (in Russian).
- Yakubovskaya R.I., Bezborodova O.A., Nemtsova E.R., Tutykhina I.L., Shmarov M.M., Logunov D.Yu., Naroditskiy B.S., Chissov V.I., Ginzburg A.L. *Molecular Genetics, Microbiology & Virology*. 2010. V. 2. P. 28-33 (in Russian).
- Guidelines for Experimental (Preclinical) Study of Novel Pharmacological Substances. Edit. RU Khabriev, M. «Medicine», 2005, 832 p (in Russian).
- Methods of Experimental Chemotherapy, Practical Guidelines. Edit. GN Pershin, M. «Medicine», 1971, 541 p (in Russian).

R.I. Yakubovskaya¹, A.A. Pankratov¹, T.N. Andreeva¹, J.B. Venediktova¹, O.A. Bezborodova¹, I.L. Tutykhina², E.V. Evgrafov², D.Yu. Logunov², M.M. Shmarov²

PRECLINICAL STUDY OF GENERAL TOXICITY OF ADELACT™ IN RODENT MODELS

¹Federal State Budgetary Institution «P.A.Gerzen Moscow Research Institute of Oncology», RF Ministry of Health, 125284, Moscow, Russian Federation

²Federal State Budgetary Institution «N.F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology», RF Ministry of Health, 123098, Moscow, Russian Federation.

Toxicity of AdeLact™, a novel medicinal product on the basis of recombinant pseudo-adenoviral particles expressing human lactoferrin gene, was studied. Acute toxicity was evaluated in mice and rats, and sub-chronic toxicity was evaluated in rats and rabbits. According to its acute toxicity, AdeLact™ was classified as a low hazardous preparation and according to its sub-chronic toxicity, as a moderate hazardous preparation. In toxic doses, AdeLact™ demonstrated moderate hepatic and renotropic toxicity. Inflammatory processes might develop in lungs after administration of AdeLact™. Intravenous infusion of AdeLact™ produces a mild and fully recoverable local effect.

Keywords: AdeLact™, human lactoferrin gene, human lactoferrin, adenovirus of serotype 5, general toxicity, acute toxicity, sub-chronic toxicity.

Переработанный материал поступил в редакцию 10.03.2015 г.

У№ДК 615.099-616.2

ОЦЕНКА АЛЛЕРГЕННОСТИ И ИММУНОТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА СТОДАЛЬ

Л.П. Коваленко, А.В. Таллерова,
О.С. Кузнецова, А.С. Лапицкая

ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»
РАМН, 125315, г. Москва, Российская Федерация

Проведена оценка аллергенности и иммунотоксичности препарата стодаль. Иммунизация морских свинок препаратом Стодаль по стандартной схеме в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг или в смеси с полным адьювантом Фрейнда не вызывала системной реакции анафилаксии или аллергических реакций замедленного типа. Введение препарата Стодальвнутрижелудочно (в/ж) в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг мышам линии СВА не оказывало влияния на реакцию воспаления на конканавалин А (Кон А).

У мышей F_1 (СВА х С57BL/6) стодаль, вводимый в/ж в течение 14 дней, в дозе 1 мл/кг вызывал значимое увеличение индекса массы и клеточности тимуса на 41,5 % и 28,7 %, в дозе 10 мг/кг - массы тимуса на 20,8 %. Введение препарата в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг не влияло на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов и на показатели хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на опсонизированный зимозан. Двухнедельное введение препарата Стодаль в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг мышам линий СВА и С57BL/6 вызывало значимую стимуляцию гуморального иммунного ответа. У мышей гибридов F_1 (СВА х С57BL/6) введение в дозе 1 мл/кг вызывало достоверное увеличение показателей клеточного иммунитета.

Таким образом, препарат Стодаль в диапазоне изученных доз не вызывает аллергических реакций немедленного и замедленного типа и псевдоаллергических реакций, стимулирует гуморальный и клеточный иммунитет и не оказывает иммунотоксического действия.

Ключевые слова: препарат Стодаль, реакция системной анафилаксии, гиперчувствительность замедленного типа, реакция воспаления на Кон А, фагоцитоз, хемилюминесценция, гуморальный иммунный ответ, клеточный иммунный ответ, иммунотоксичность.

Введение. Фитотерапевтические препараты получили широкое распространение в качестве средств профилактики и адьювантной терапии широкого круга заболеваний. Необходимость их токсикологической оценки неоднократно подчеркивалась в современной литературе [1].

Комплексный фитопрепарат препарат Стодаль применяется при симптоматическом лечении кашля различной этиологии. Показано, что по эффективности препарат не уступает кодеин-содержащим и другим традиционным противокашлевым лекарственным средствам [2,3]. Противопоказанием к применению стодала является повышенная индивидуальная чувстви-

тельность к отдельным компонентам препарата. В частности, возможны аллергические реакции к компонентам препарата *Bryonia* и *Pulsatilla* [4].

Целью настоящего исследования явилась экспериментальная оценка аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия препарата стодаль.

Материалы и методы исследования. В исследовании использован противокашлевый препарат Стодаль производства лаборатории «Буарон», Франция. Стодаль является комплексным фитопрепаратом в состав которого, на каждые 100 г препарата входят *Pulsatilla*, *Rumex crispus*, *Bryonia*, *Ipeca*, *Spongia tosta*, *Sticta pulmonaria*,

Коваленко Лариса Петровна (Kovalenko Larisa Petrovna), доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательского института фармакологии имени В.В. Закусова» Российской академии медицинских наук, г. Москва, kovalenko.larisa@mail.ru

Таллерова Анна Вадимовна (Tallerova Anna Vadimovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательского института фармакологии имени В.В. Закусова» Российской академии медицинских наук, г. Москва, annatall@rambler.ru

Кузнецова Ольга Сергеевна (Kuznetsova Olga Sergeevna), младший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательского института фармакологии имени В.В. Закусова» Российской академии медицинских наук, г. Москва, olgapharm@inbox.ru

Лапицкая Анастасия Сергеевна (Lapitskaya Anastasya Sergeevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологической генетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательского института фармакологии имени В.В. Закусова» Российской академии медицинских наук, г. Москва, lapitskaia.n@mail.ru

Antimonium tartaricum, Myocardec, Coccus casti, Drosera (по 0,95 г каждый) и вспомогательные компоненты (сироп Толу 19,0 г, сироп Полигала 19,0 г, этанол 96 % 0,340 г, карамель 0,125 г, бензойная кислота 0,085 г, сироп сахарозы до 100 г).

Выбор тест-систем и других параметров экспериментов, использованных при оценке аллергизирующих свойств и иммуноотоксичности препарата стодаль, определялся требованиями, изложенными в соответствующих методических документах [5-7].

В работе использовали самцов морских свинок альбиносов массой 250-300 г и самцов мышей линий СВА, С57BL/6 и гибридов F₁ (СВА х С57BL/6) массой 18-20 грамм, полученных из питомников РАМН, после двухнедельного карантина в виварии института. Животных содержали в условиях вивария в соответствии с санитарными нормами, предусмотренными «Правилами лабораторной практики» (приказ Министерства Здравоохранения и Социального развития РФ от 23 августа 2010 г №708 н) при свободном доступе к воде и сбалансированному по питательности брикетированному гранулированному комбикорму фирмы «МЭСТ». Экспериментальные группы животных формировали методом случайной выборки с учетом массы тела в качестве определяющего показателя.

Согласно инструкции по применению (производитель – лаборатория Буарон, Франция, серия M1103225), препарат Стодаль принимают перорально 3-5 раз в день по 15 мл (суточная доза 45-75 мл). В связи с этим дозы препарата при введении морским свинкам альбиносам и мышам линий СВА, С57BL/6 и гибридов F₁ (СВА х С57BL/6) составляли 1 мл/кг и на порядок выше -10 мл/кг. В предварительной серии экспериментов на 6 морских свинок альбиносах массой 250-300 г изучали кожнораздражающее действие от внутрикожного (в/к) введения 0,05 мл стодала в 1%, 10 % и 20% концентрациях. На выстриженных правом и левом боках спины животным вводили в/к препарат Стодаль и в качестве контроля – 0,05 мл стерильного физиологического раствора. Внутрикожное введение препарата Стодаль в 20% концентрации вызывало у 1-й из 6-ти свинок кожнораздражающее действие, в 1% и 10% концентрациях Стодаль не вызывал кожнораздражающего действия, поэтому в качестве разрешающей дозы для реакции

ГЗТ было выбрано в/к введение препарата в 10% концентрации.

При постановке анафилактического шока морским свинкам альбиносам вводили Стодаль по стандартной схеме в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг [5], контрольным животным вводили соответствующий объем дистиллированной воды. Учет интенсивности анафилактического шока проводили в индексах по Weigle [5]. Реакцию воспаления на Кон А проводили на мышцах самцах линии СВА. Стодаль вводили однократно перорально в дозах 1 мл/г и 1 мл/кг. Животным контрольной группы аналогичным способом вводили растворитель.

При оценке иммуноотоксических свойств стодала препарат вводили в/ж мышам линий СВА, С57BL/6 и гибридам F₁ (СВА х С57BL/6) 14 дней в дозах 1 мл/кг 10 мл/кг. Для изучения фагоцитоза перитонеальных макрофагов были использованы частицы коллоидной туши. Определение антител в реакции гемагглютинации (РПГА) к эритроцитам барана (ЭБ) выполнено на мышцах двух оппозиционно реагирующих на ЭБ линий СВА и С57BL/6.

Подготовка к работе первичных данных и расчеты проводились в среде пакета статистических программ (PSP) STATISTICA (версия 6.0) для WINDOWS. Статистический анализ данных проводился с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Иммунизация морских свинок препаратом Стодаль в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг при внутрисердечном (в/с) введении на 16 день опыта разрешающей дозы препарата у всех животных не вызывала симптомов системной реакции анафилаксии.

При иммунизации морских свинок препаратом в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг в смеси с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) и животных контрольной группы ПАФ, на 21-й день опыта при в/к разрешающей дозы стодала у всех животных не наблюдали аллергических реакций замедленного типа.

Однократное введение препарата Стодаль в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг мышам линии СВА не вызывало значимых изменений реакции воспаления на Кон А по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

При изучении иммуноотоксического действия препарата Стодаль на массу и клеточность лим-

Таблица 1

Влияние препарата стодаль на реакцию воспаления на Кон А

Доза препарата	Число животных в группе	Индекс реакции
Контроль Физ. раствор	10	13,0 ± 2,0
Стодаль 1 мл/кг	10	8,8 ± 1,4
Стодаль 10 мл/кг	10	11,6 ± 2,2

фоидных органов опыты проводили на мышах гибридах F_1 (СВА x C57BL/6). Двухнедельное в/ж введение препарата Стодал в дозе 1 мл/кг приводило к достоверному увеличению массы и клеточности тимуса на 41,5 % и 20,8 %, соответственно, в дозе 10 мл/кг – массы тимуса на 20,8 % (табл. 2).

Для изучения фагоцитоза перитонеальных макрофагов были использованы частицы коллоидной туши. Результаты представлены в таблице 3, согласно которым в/ж введение препарата Стодал мышам гибридам F_1 (СВА x C57BL/6) в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг не влияло на индекс фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов.

При определении активности нейтрофилов в тесте хемилюминесценции в качестве источника нейтрофилов использовали гепаринизированную кровь мышей гибридов F_1 (СВА x C57BL/6), выделенную путем декапитации животных. У группы контрольных мышей уровень спонтанной хемилюминесценции суспензии нейтрофилов – $I_{\text{сп}}$ составлял $1,4 \pm 0,3$ mV. Двухнедельное введение препарата Стодал в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг не оказывало значимого влияния на уровни спонтанной хемилюминесценции, указанные показатели составляли $1,0 \pm 0,2$ mV и $1,1 \pm 0,2$ mV, соответственно. После добавления к су-

спензии нейтрофилов зимозана в указанной ранее концентрации уровень стимулированной хемилюминесценции – ΔI у контрольных животных составил $29,5 \pm 6,6$ mV. Интегральный показатель хемилюминесценции – S составлял $23726,9 \pm 5186,1$ ед., а время достижения максимального уровня хемилюминесценции – $t_{\text{макс}}$ составляло $968,0 \pm 48,5$ секунд. При изучении кинетики хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на зимозан в контрольной и опытных группах животных выявили, что 14-дневное в/ж введение препарата Стодал в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг не приводило к достоверному изменению параметров хемилюминесценции (табл. 4).

Влияние препарата Стодал на гуморальный иммунный ответ изучали, используя реакцию гемагглютинации. Результаты опытов (табл. 5) свидетельствуют, что двухнедельное пероральное введение препарата Стодал в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг мышам линий СВА и C57BL/6 вызывало значимую стимуляцию гуморального иммунного ответа. Действие препарата Стодал на клеточный иммунный ответ изучали по реакции гиперчувствительности замедленного типа в опытах на мышах гибридах F_1 (СВА x C57BL/6). Введение препарата Стодал

Таблица 2

Индекс масса и клеточность лимфоидных органов (% от массы тела) мышей-самцов F_1 (СВА x C57BL/6) при в/ж введении препарата Стодал в течение 14-ти дней

Органы лимфоидной системы $n=10$	Контроль		Стодал (1 мл/кг)		Стодал (10 мл/кг)	
	Индекс массы (%)	клеточность $\frac{п * 10^6 \text{ клеток}}{\text{мл} * \Gamma_{\text{органа}}}$	Индекс массы (%)	клеточность $\frac{п * 10^6 \text{ клеток}}{\text{мл} * \Gamma_{\text{органа}}}$	Индекс массы (%)	клеточность $\frac{п * 10^6 \text{ клеток}}{\text{мл} * \Gamma_{\text{органа}}}$
Селезенка	$0,416 \pm 0,015$	$70,1 \pm 5,2$	$0,427 \pm 0,017$	$71,3 \pm 3,8$	$0,412 \pm 0,019$	$68,7 \pm 6,1$
Тимус	$0,183 \pm 0,010$	$23,0 \pm 3,3$	$0,259 \pm 0,018^{**}$	$29,6 \pm 2,9^*$	$0,221 \pm 0,013^*$	$28,7 \pm 4,6$
Подколенные лимфоузлы	$0,048 \pm 0,007$	$4,9 \pm 0,5$	$0,055 \pm 0,004$	$5,5 \pm 0,4$	$0,046 \pm 0,005$	$4,5 \pm 0,6$

Примечание: n – количество животных; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой по t -критерию Стьюдента

Таблица 3

Влияние препарата Стодал на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов при в/ж введении в течение 14 дней

Доза стодала	Фагоцитарный индекс (усл.ед.)	Уровень значимости
Контроль ($n=10$)	$5,7 \pm 1,2$	
14-дневное введение в/ж 1 мл/кг ($n=10$)	$6,1 \pm 0,7$	$p > 0,05$
14-дневное в/ж введение 10 мл/кг ($n=10$)	$8,6 \pm 1,1$	$p > 0,05$

Примечание: n – количество животных в группе
 p – достоверность различий по сравнению с контрольной группой по t – критерию Стьюдента

в дозе 1 мл/кг в течение 14 дней мышам гибридам F₁(СВАхС57BL/6 вызывало достоверное увеличение показателей клеточного иммунитета (табл. 6).

Заключение. В результате проведенного экспериментального исследования алергизирующих свойств и иммунотоксичности препарата Сто-

даль было установлено, что иммунизация препаратом в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг не вызывало у морских свинок альбиносов системной реакции анафилаксии. После иммунизации морских свинок стодалем в дозах 1мл/кг и 10 мл/кг в смеси с полным адъювантом Фрейнда у животных опытных групп не наблюдали аллергических ре-

Таблица 4

Влияние препарата Стодаль на показатели хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на зимозан

Доза стодаля	ΔI , (mv)	Уровень значимости	S, (ед.)	Уровень значимости
Контроль (n=10)	29,5 ± 6,6		23726,9 ± 5186,1	
14-дневное введение в/ж 1 мл/кг (n=10)	28,0 ± 5,4	p>0,05	29049,1 ± 3487,3	p>0,05
14-дневное в/ж введение 10 мл/кг (n=10)	17,2 ± 5,5	p>0,05	14954,9 ± 4653,7	p>0,05

Примечание: n – количество животных; ΔI – показатель уровня активированной хемилюминесценции; S – интегральный показатель хемилюминесценции.

p – достоверность различий по сравнению с контрольной группой по t-критерию Стьюдента.

Таблица 5

Влияние препарата Стодаль на гуморальный иммунитет (РПГА) при в/ж введении препарата в течение 14-ти дней

Доза препарата стодаль	Величина иммунного ответа при антигенной нагрузке 5 x 10 ⁷ ЭБ			
	СВА		С57BL/6	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1 мл/кг	5,9 ± 0,2 n=10	7,1 ± 0,2 n=10 p<0,01	4,5 ± 0,2 n=10	5,9 ± 0,2 n=10 p<0,05
10 мл/кг	5,9 ± 0,2 n=10	7,4 ± 0,2 n=10 p<0,01	4,5 ± 0,2 n=10	5,4 ± 0,2 n=10 p<0,05

Примечание: в таблице представлены средние величины титра антител в log₂; n – число животных в группе.

Таблица 6

Влияние препарата Стодаль на клеточный иммунитет (ГЗТ) при в/ж введении препарата в течение 14-ти дней

Доза препарата	Индекс реакции: $I_p = \frac{R_{оп} - R_k}{R_k} \times 100 \%$	Уровень значимости
Контроль	48,2 ± 5,2; n=10	
1 мл/кг	62,5 ± 3,5; n=10	p<0,05
10 мл/кг	56,2 ± 3,9; n=10	

Примечание: n – число животных в группе.

акций замедленного типа. Однократное введение препарата Стодал в/ж в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг мышам линии СВА не вызывало значимых изменений по сравнению с контролем в реакции воспаления на Кон А.

Введение препарата Стодал в течение 14 дней в/ж мышам F₁ (СВА x C57BL/6) в дозе 1 мл/кг привело к достоверному увеличению индекса массы и клеточности тимуса на 41,5 % и 28,7 %, соответственно, в дозе 10 мл/кг – массы тимуса на 20,8 %. Двухнедельное введение препарата Стодал в дозах 1 мл/кг и 10 мл/кг мышам линий СВА

и C57BL/6 вызывало значимую стимуляцию гуморального иммунного ответа. У мышей гибридов F₁ (СВА x C57BL/6) введение в течение 14 дней препарата Стодал в дозе 1 мл/кг вызывало достоверное увеличение показателей клеточного иммунитета.

Результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что препарат Стодал в диапазоне изученных доз не вызывает аллергических реакций немедленного и замедленного типа и псевдоаллергических реакций, стимулирует гуморальный и клеточный иммунитет и не оказывает иммунотоксического действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Крепкова Л. В., Бортникова В. В., Сокольская Т. А. Некоторые аспекты токсикологического изучения лекарственных препаратов, созданных на основе лекарственного растительного сырья. *Фундаментальные исследования*. 2013. № 9-2: 256-258
2. Коройд Н. В., Заплатникова А. Л., Мингалимова Г. А., Глухарева Н. С. Внебольничные пневмонии у детей: ди-

- агностика и лечение. Трудный пациент. 2012; 10 (8): 20-25.
3. Радциг Е. Ю. Кашель – защитный механизм и симптом инфекций дыхательных путей. *Педиатрия*. 2009; 88 (5): 112-117.
4. Govekar J.P., Paul V.K., Singh K., Oberai Praveen, Roja Varanasi. Clinical evaluation of homeopathic therapy in the management of hyperlipoproteinemia. *Indian Journal of Research in Homeopathy*.

2008. 5 (2): 34-41.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Методические рекомендации по оценке алергизирующих свойств лекарственных средств Часть первая. М.: Гриф и К; 2012; 51-63.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств Методические рекомендации

- по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012; 64-79.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств Методические рекомендации по доклиническому изучению иммунотропной активности фармакологических веществ. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012; 626-656.

REFERENCES:

1. Krepkova L.V., Bortnikova V.V., Sokol'skaya T.A. Some aspects of the toxicological studies of drug based on medicinal plants. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013. № 9-2: 256-258 (in Russian).
2. Koroid N.V., Zaplatnikova A.L., Mingalimova G.A., Glukhareva N.S. Community-acquired pneumonia in children:

- diagnosis and treatment. *Trudnyy patient*. 2012; 10 (8): 20-25. (in Russian).
3. Radtsig E.Yu. Cough – defense mechanism and a symptom of respiratory tract infections. *Pediatriya*. 2009; 88 (5): 112-117. (in Russian).
4. Govekar J.P., Paul V.K., Singh K., Oberai Praveen, Roja Varanasi. Clinical evaluation of homeopathic therapy in

- the management of hyperlipoproteinemia. *Indian Journal of Research in Homeopathy*. 2008. 5 (2): 34-41.
5. Guidelines of pre-clinical studies of drugs, 2012 year. Assessment of allergenic properties of drugs. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012; 51-63 (in Russian).
6. Guidelines of pre-clinical studies of drugs, 2012 year. Assessment of

- immunotoxicology action of pharmacological substances. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012; 626-656 (in Russian).
7. Guidelines of pre-clinical studies of drugs, 2012 year. Preclinical studies immunotropic activity of pharmacological agents. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012; 626-656 (in Russian).

L.P. Kovalenko, A.V. Tallerova, O.S. Kuznetsova, A.S. Lapitskaya

EXPERIMENTAL STUDY OF ALLERGENIC PROPERTIES AND IMMUNOTOXICITY OF THE DRUG STODAL

Federal State Budgetary Institution «V.V. Zakusov research Institute of Pharmacology» under the Russian Academy of Medical research Science, 125315, Moscow, Russian Federation

Allergenicity and immunotoxicity of Stodal preparation was assessed. Immunization of guinea pigs with Stodal in doses of 1 ml/kg and 10 ml/kg according to a standard scheme or mixed with complete Freund's adjuvant did not provoke a systemic anaphylactic reaction or delayed allergic reactions in animals. A single per os administration of the Stodal preparation in doses of 1mg/kg and 10 ml/kg to CBA line mice did not affect the inflammation response to concanavalin A (Con.A).

In F₁ (CBA x C57BL/6) mice, Stodal perorally administrated at a dose of 1 ml/mg over 14 days caused a significant increase of thymus mass index and cellularity by 41.5% and in a dose of 10 ml/kg the thymus mass increased by 28.7%. The preparation administrated in the doses of 1 ml/kg and 10 ml/kg did not affect peritoneal macrophage phagocytic activity and indicators of the neutrophils hemiluminescent response to opsonized zymosan. A two week administration of Stodal preparation in doses of 1 ml/kg and 10 ml/kg to CBA and C57BL/6 strain mice induced a significant stimulation of the humoral immune response. In F₁ (CBA x C57BL/6) hybrid mice, 1 ml/kg dose administration induced an authentic increase of cellular immunity indicators. Thus, the Stodal preparation in the dose range investigated does not produce allergic responses of non-delayed and delayed types and pseudo-allergic reactions, stimulates humoral and cellular immunity and does not produce immune-toxic effect.

Keywords: *Stodal preparation, systemic anaphylactic reaction, delayed hypersensitivity, inflammation response to concanavalin A, phagocytosis, hemiluminescence, humoral immune response, cellular immune response, immunotoxicity.*

Материал поступил в редакцию 18.03.2015 г.

УДК 546.8 : 615.27

КОРРЕКЦИЯ КОМБИНАЦИЕЙ ТАУРИНА С ЦИНКА ДИАСПАРТАТОМ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРЫ ПОЧЕК У КРЫС С СУЛЕМОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ¹

О.Н. Басалай,
Е.Ч. Михальчук,
М.И. Бушма,
С.М. Зиматкин

УО «Гродненский
государственный медицинский
университет» МЗ РБ, 230005,
г. Гродно, Республика Беларусь

Комбинация таурина (20 г/моль – 2,5 г) с цинка диаспартатом (1 г/моль – 0,35 г) («тауцин»), вводимая в желудок в дозах 250 и 500 мг/кг – 14 дней, обладает дозозависимым нефрозащитным действием при сулемовой (внутрибрюшинно, 0,1 мг/кг – 14 дней) нефропатии у крыс. Это проявляется увеличением объема первичной мочи в клубочках корковых нефронов за счет ослабления сдавления их капсулы отеочной жидкостью, снижением внутреннего диаметра проксимальных извитых канальцев корковых нефронов как следствие менее выраженного «внутриканальцевого гидронефроза» и увеличением высоты выстилающих их эпителиоцитов. Детальный анализ последних свидетельствует об их менее выраженном повреждении сулемой: увеличивается процент клеток без повреждения за счет снижения – с деструкцией апикальных отделов, а также более ½ высоты клеток.

Ключевые слова: крысы, сулемовая нефропатия, комбинация таурина с цинка диаспартатом, нефрозащитное действие.

Введение. Сулема широко применяется в экспериментальной фармакологии для моделирования поражения почек, преимущественно эпителия проксимальных извитых канальцев (ПИК) корковых нефронов (КН) [1]. В патогенезе нефропатии играет роль ее способность накапливаться в эпителиоцитах ПИК, преимущественно КН. В последующем она связывается с ферментами, содержащими SH-группы, с развитием цитотоксичности [2, 3]. Целью исследования было изучение протекторной роли таурина при нарушении структуры почек у крыс с сулемовой нефропатией.

Материалы и методы исследования. Опыты проведены на 32 нелинейных крысах-самцах массой 200 – 250 г в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными. Сулему (производитель – ООО «Алхим», Украина) вводили внутрибрюшинно в дозе 0,1 мг/кг/день в течение 14 дней. Испытывали «тауцин» (комбинация таурина с цинка диаспар-

татом): 20 г/моль таурина (2,5 г) с 1 г/молем цинка диаспартата (0,35 г). Его вводили в желудок в виде взвеси в слизи крахмала в дозах 250 и 500 мг/кг, 1 раз в день вместе с сулемой. Через 24 часа после последнего введения веществ крыс умерщвляли и извлекали левую почку для проведения гистологических исследований.

О характере и степени выраженности сулемовой нефропатии судили по данным морфологических и морфометрических исследований гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином [4]. Морфометрические и цитофотометрические исследования проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (Leica FC 320, Германия), а также компьютерной программы анализа изображения ImageWarp 2,1 (лицензионный номер 151B3D61; BitFlow, США).

Количественную оценку полученных результатов проводили методом непараметрической статистики Манна-Уитни, применяя поправку

¹ Исследование выполнено в рамках Государственной научно-технической программы Республики Беларусь «Фармацевтические субстанции и лекарственные средства» (подпрограмма «Аминокислоты») по заданию «Разработать цитопротектор и корректор метаболизма эпителиальных тканей «тауцин» и освоить его производство на СП ООО «Фармлэнд» (2011 – 2019 гг.).

Басалай Ольга Николаевна (Basalai Olga Nikolaevna), аспирант, ассистент кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь, Basalai2012@mail.ru
Михальчук Елена Чеславовна (Mikhaichuk Elena Cheslavovna), к. б. н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь, milena6519@mail.ru
Бушма Михаил Иванович (Bushma Mikhail Ivanovich), д. м. н., профессор, зав. кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь, pharma@grsmu.by
Зиматкин Сергей Михайлович (Zimatkin Sergey Mikhailovich), д. б. н., профессор, зав. кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь, zimatkin@grsmu.by

Бонферрони с использованием пакета программ «Statistica» 6.0.437.0 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897 [5].

Результаты и обсуждение. *Нефротоксическое действие* сулемы. Результаты морфологических и морфометрических исследований почек крыс, получавших сулему (внутрибрюшинно, 0,1 мг/кг/день – 14 доз), свидетельствует о развитии нефропатии (табл.), что согласуется с литературными данными [3,6].

Нефрозащитное действие «тауцин» в дозе 250 мг/кг. Сравнительный анализ двух групп животных, получавших сулему, отдельно, и в комбинации с «тауцин», свидетельствует о нефрозащитных свойствах последнего.

Корковые нефроны. Количество ПИК без повреждений (1 тип) превышает значения не поврежденных крыс, получавших сулему, в 2,2 раза, а с деструкцией более ½ высоты эпителиоцитов и полным их разрушением (3 и 4 тип, соответственно) – уменьшается на 86 – 91%. Количество канальцев, заполненных клеточным детритом и их внутренний диаметр снижаются на 51 и 23%, соответственно (табл.). Менее выражено воспа-

ление интерстициальной ткани, окружающей ПИК. Об этом свидетельствует отсутствие ее значительной инфильтрации лимфоцитами.

Юкстамедуллярные нефроны. Увеличенный объем полости капсулы снижается на 19%. Расширенные гемакапилляры сосудистых клубочков встречаются реже. Ядра подоцитов и клеток эндотелия определяются четче. Менее выражены патологические изменения в кубических эпителиоцитах, выстилающих канальцы восходящих отделов петли Генле. Об этом свидетельствуют реже встречающиеся эпителиоциты с вакуольной дистрофией, а также меньшее количество клеточного детрита в просвете петли. Патологические изменения в интерстициальной ткани, как и у корковых нефронов, менее выражены (табл.).

Нефрозащитное действие «тауцин» в дозе 500 мг/кг. Сравнительный анализ двух групп крыс с сулемовой нефропатией, получавших «тауцин» в дозах 250 и 500 мг/кг свидетельствует о его дозозависимом нефрозащитном действии по отношению к корковым, но не к юкстамедуллярным нефронам.

Таблица

Результаты морфометрических исследований почек крыс, получавших сулему (внутрибрюшинно, 0,1 мг/кг/день – 14 доз), отдельно, и в комбинации с «тауцин» (в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, 250 и 500 мг/кг/день – 14 доз)

Изучаемые показатели	Контроль	Сулема	Сулема + «тауцин», 250 мг/кг	Сулема + «тауцин», 500 мг/кг
Корковые нефроны				
Диаметр почечного тельца (мкм)	84,6 (83,6;85,9)	90,7 (89,1; 92,7) 0,0008	89,1 (86,7; 89,9) 0,004 (0,08)	87,9 (86,3; 90,0) 0,008 (0,04) [0,7]
Диаметр сосудистого клубочка (мкм)	76,3 (75,5;77,6)	85,2 (84,2; 86,1) 0,0008	83,4 (81,8; 84,8) 0,0008 (0,05)	87,9 (86,3; 90,0) 0,008 (0,04) [0,7]
Объем полости капсулы (см ³)	84,9 (80,2;88,4)	70,5 (64,1; 76,3) 0,002	59,5 (53,2; 68,6) 0,0008 (0,04)	105,5 (92,5; 112,8) 0,005 (0,0008) [0,008]
Проксимальные извитые канальцы (%): 1 типа,	96,0 (94,5; 97,5)	37,5 (32,5; 41,0) 0,0008	83,5 (79,5; 89,0) 0,001 (0,0008)	93,5 (91,0; 95,5) 0,1 (0,0008) [0,009]
2 типа,	3,5 (1,5; 5,5)	14,5 (10,5; 15,5) 0,0009	10,5 (8,5; 12,5) 0,001 (0,07)	3,5 (2,5; 4,5) 1,0 (0,0008) [0,0008]
3 типа,	0 (0; 0)	21,5 (18,5; 23,5) 0,0008	3,0 (1,5; 3,5) 0,001 (0,0008)	1,0 (0,5; 1,0) 0,03 (0,0008) [0,008]

4 типа,	0 (0; 0)	27,5 (25,5; 29,5) 0,0008	2,5 (1,0; 3,5) 0,002 (0,0008)	1,0 (0,5; 1,0) 0,03 (0,0008) [0,03]
заполненные детритом.	0 (0; 1)	25,5 (21,0; 27,5) 0,0008	12,5 (10,5; 14,5) 0,0008 (0,0008)	9,5 (8,5; 11,5) 0,0008 (0,0008) [0,09]
Диаметры проксимальных извитых канальцев (мкм): наружный,	27,7 (24,0; 33,9)	37,5 (33,6; 41,2) 0,008	32,9 (30,7; 37,5) 0,09 (0,09)	29,7 (28,7; 32,1) 0,5 (0,003) [0,06]
внутренний.	6,9 (5,5; 7,3)	18,2 (17,5; 19,5) 0,0008	14,1 (13,2; 14,9) 0,0008 (0,0008)	9,5 (8,7; 11,1) 0,001 (0,0008) [0,002]
Высота эпителиоцитов прокси-мальных извитых канальцев (мкм)	10,5 (10,1; 10,8)	9,5 (9,2; 10,0) 0,008	9,4 (9,2; 9,7) 0,001 (0,6)	10,4 (10,1; 10,8) 1,0 (0,008) [0,001]
Юкстамедуллярные нефроны				
Объем полости капсулы (см ³)	121,9(109,3; 131,9)	213,9(207,4; 224,5) 0,0008	172,7(163,7; 184,2) 0,0008 (0,001)	162,7(150,4; 171,2) 0,002 (0,002) [0,2]
Проксимальные извитые канальцы (%): без повреждений,	99,0 (98,0; 99,5)	74,5 (61,5; 83,0) 0,0008	80,0 (73,0; 89,0) 0,0008 (0,3)	83,0 (79,5; 92,0) 0,001 (0,07) [0,3]
с повреждениями,	1,0 (0,5; 2,0)	25,5 (17,0; 38,5) 0,0008	20,0 (11,0; 27,0) 0,0008 (0,3)	17,0 (8,0; 20,5) 0,001 (0,07) [0,3]
заполненные детритом.	0 (0; 1,0)	8,5 (7,0; 10,5) 0,0008	5,0 (3,5; 8,5) 0,0008 (0,2)	4,5 (2,5; 9,5) 0,001 (0,2) [0,7]
Внутренний диаметр прокси- мальных извитых канальцев (мкм)	2,1 (1,4; 2,5)	3,5 (2,9; 4,5) 0,003	2,4 (1,7; 3,0) 0,4 (0,02)	2,0 (1,6; 2,7) 0,8 (0,005) [0,6]

Примечание: строки цифр: первая – значения Me и 25-75% квартилей (в скобках); вторая – p: без скобок – в сравнении с контрольными, в круглых скобках – с получавшими сулему, в квадратных – с получавшими сулему в комбинации с «тауцин» в дозе 250 мг/кг крысами. Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые значения p с учетом поправки Бонферрони.

В КН увеличивается объем полости капсулы клубочков (на 77%) и снижается внутренний диаметр ПИК (на 48%). Высота выстилающих их эпителиоцитов возрастает в большей степени. Количество ПИК 1 типа превышает значения крыс предыдущей группы на 12%, а 2 (с деструкцией только апикальных отделов) и 3 типов – снижается в одинаковой степени на 77% (табл.).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что комбинация аминокислоты таурина с органической солью цинка (цинка диаспартат) обладает дозозависимым нефрозащитным действием у крыс с сулемовой нефропатией. В механизме такого действия играют роль входящие в состав комбинации компоненты. Из-

вестна способность таурина связываться с сулемой с последующей экскрецией нетоксичного комплекса с мочой. Кроме того, он обезвреживает свободнорадикальные цитотоксические метаболиты кислорода [7]. Нефрозащитные свойства цинка в значительной степени обусловлены его антиоксидантными свойствами. Он является кофактором супероксиддисмутазы и посттрансляционным активатором глутатионпероксидазы – важнейших ферментов системы антиоксидантной защиты клеток [8]. Кроме того, цинк в качестве кофактора входит в состав более 200 ферментов, поэтому является активатором процессов внутриклеточного метаболизма, ингибированного сулемой [9].

Выводы. 1. Сулема (внутрибрюшинно, 0,1 мг/кг/день – 14 доз) оказывает нефротоксическое действие, проявляющееся в поражении ПИК и структурных компонентов почечных телец, преимущественно КН.

2. Комбинация таурина (20 г/моль) с цинка диаспаратом (1 г/моль) («тауцин»), вводимая в желудок в виде взвеси в слизи крахмала (250 мг/кг/день – 14 доз), ослабляет проявления

сулемовой нефропатии. В КН увеличивается количество канальцев 1 типа; снижается – 3-4 типов, их внутренний диаметр и содержание дextrита в просвете. В ЮН уменьшается объем полости капсулы.

3. Двукратное увеличение дозы «тауцин» сопровождается усилением его нефрозащитного действия по отношению к корковому, но не к юкстамедуллярным нефронам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lawrence H.L. [et al] Influence of exogenous thiols on inorganic mercury induced injury in renal proximal and distal tubular cells from normal and uninephrectomized rats. *J. Pharmacol. Exp.* 1999; 5: 492–02.
2. Zalups R.K. Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacological Reviews.* 2000; 5: 113–44.
3. Xiao Y. Effect of ischemia-reperfusion on

- the renal brush border membrane sodium dependent phosphate co transporter NaPi-2. *Can. J. Physiol. and Pharmacol.* 2001; 7: 206–12.
4. Можейко Л.А. Классические методы окраски в гистологии. ГрГМУ. 2010; 1: 23–34.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Москва: МедиаСфера; 2002.

6. Запорожан В.Н., Гоженко А.И., Амбросийчук Е.В. Особенности осморегулирующей функции почек при анемии беременных в условиях водно-солевых нагрузок. *Нефрология.* 2002; 6: 75–78.
7. Harada H. [et al.] Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rats. *Hypertens Res.* 2000; 23: 277–284.

8. Formigari A., Irato P., Santon A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects. *Comp. Biochem. Physiol. Pt. C.* 2007; 146: 443–459.
9. Truong-Tran A.Q. [et al.] The role of zinc in caspase activation and apoptotic cell death. *Biometals.* 2001; 14: 315–330.

REFERENCES:

1. Lawrence H. L. [et al] Influence of exogenous thiols on inorganic mercury induced injury in renal proximal and distal tubular cells from normal and uninephrectomized rats. *J. Pharmacol. Exp.* 1999; 5: 492–02.
2. Zalups R.K. Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacological Reviews.* 2000; 5: 113–44.
3. Xiao Y. Effect of ischemia-reperfusion on

- the renal brush border membrane sodium dependent phosphate co transporter NaPi-2. *Can. J. Physiol. and Pharmacol.* 2001; 7: 206–12.
4. Mozhejko L.A. Classical methods of coloring in histology. GrGMU. 2010; 1: 23–34 (in Russian).
5. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Moskva: MediaSfera; 2002 (in Russian).

6. Zaporozhan B.H., Gozhenko A.I., Ambrosijchuk E.V. Features of osmoregulatory function of kidneys at anemia of pregnant women in the conditions of water-salt loadings. *Nefrologija.* 2002; 6:75-78 (in Russian).
7. Harada H. [et al.] Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rats. *Hypertens Res.* 2000; 23: 277–284.

8. Formigari A., Irato P., Santon A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects. *Comp. Biochem. Physiol. Pt. C.* 2007; 146: 443–459.
9. Truong-Tran A.Q. [et al.] The role of zinc in caspase activation and apoptotic cell death. *Biometals.* 2001; 14: 315–330.

O.N. Basalai, E.Ch. Mikhalechuk, M.I. Bushma, S.M. Zimatkin

CORRECTION OF THE KIDNEYS STRUCTURE DISTURBANCES IN RATS WITH SUBLIMATE NEPHROPATHY USING A COMBINATION OF TAURIN WITH ZINC DIASPARTATE

Education Institution «Grodno State Medical University», RB Ministry of Health, 230005, Grodno, Republic of Belarus

A combination of taurine (20g/mole, 2.5 g) with zinc diaspertate (1 g/mole, 0.35g) named “taucine”, administrated in the rat stomach at doses of 250 mg/kg and 500 mg/kg over 14 days has a dose-dependent nephro-protective action in rats with sublimate nephropathy (intraabdominally 0.1 mg/kg over 14 days). It manifests in an increased volume of the primary urine in cortical nephrons glomerules because of a weakened compression of their capsule by hydropic fluid, in reduction of the inner diameter of cortical nephrons proximal convoluted tubules as consequence of a less pronounced «inner tubular» hydronephrosis and increased height of lining epithelial cells. A detailed analysis of the latter shows that they are less damaged by sublimate: the percentage of undamaged cells increases because of decrease with destruction of apical sections and increase of cells height by ½ as well.

Keywords: rats, sublimate nephropathy, combination of taurine with zinc diaspertate, nephro-protective action

Материал поступил в редакцию 05.12.2014 г.

УДК 615.099

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО И ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА НОВЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ ПИРИДО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛОВ С ПОМОЩЬЮ ALLIUM ТЕСТА

Р.С. Бегунов, А.А. Соколов,
Т.В. Шебунина, С. А. Калина,
А.А. Башкирова

«Ярославский государственный
университет им. П.Г. Демидова»,
150000, г. Ярославль, Российская
Федерация

Изучено мутагенное и митозмодифицирующее действие (*Allium test*) новых полициклических конденсированных производных имидазола, обладающих высокой способностью встраиваться в молекулы ДНК: 7-трифторметилпиридо[1,2-а]бензимидазола, 7-нитропиридо[1,2-а]бензимидазола, 7-аминопиридо[1,2-а]бензимидазола, 8-нитро-7-трифторметилпиридо[1,2-а]бензимидазола, 8-амино-7-трифторметилпиридо[1,2-а]бензимидазола. Оценка цитотоксического эффекта исследуемых соединений проводилась путем сравнения с токсикологическими характеристиками широко используемого ДНК-интеркалятора 9-аминоакридина. Все азаетероциклы вызывали снижение профазного индекса, что свидетельствовало об их воздействии на процесс репликации ДНК. Наиболее распространенными мутациями являлись патологии типа «мост» - результат объединения хромосом разных дочерних клеток, а также разрушение и потери целых хромосом при делении клеток. Все моно- и дизамещенные пиридо[1,2-а]бензимидазолы оказывали меньшее митозугнетающее и мутагенное действие, чем 9-аминоакридин. Меньшими цитотоксичностью и мутагенностью для тест-системы *A.сера* обладали монозамещенные пиридо[1,2-а]бензимидазолы.

Ключевые слова: цитотоксичность, мутагенность, митозмодифицирующий эффект, *Allium test*, пиридо[1,2-а]бензимидазолы, ДНК-интеркаляторы.

Введение. Интерес ко многим гетероциклическим соединениям обусловлен их высокой биологической активностью. При этом среди всего многообразия таких веществ большой интерес вызывают полициклические конденсированные производные имидазола, содержащие узловой атом азота, например моно- и дизамещенные пиридо[1,2-а]бензимидазолы. Это объясняется тем, что некоторые из них являются биоизостерными аналогами азотистых оснований нуклеиновых кислот и поэтому обладают сродством к ДНК, часто выступая в качестве интеркаляторов [1-2].

Эти вещества, находясь в микроколичествах в клетке, вызывают одно- и двунитевые разрывы молекул нуклеиновых кислот, нарушая тем самым процессы передачи генетической информации (репликацию, транскрипцию), а также

блокируют синтез белка. Поэтому такие органические соединения могут быть использованы для создания новых противоопухолевых лекарственных препаратов, механизм действия которых заключается в избирательном связывании с ДНК и как следствие подавление нерегулируемого деления раковых клеток [3-4].

Помимо высокой фармакологической активности, одним из основных требований, предъявляемым к соединениям, которые планируется использовать в качестве лекарств, является их низкая токсичность и отсутствие отрицательного влияния на наследственный материал. Поэтому в настоящей работе исследовались цитотоксические и мутагенные свойства ряда моно- и дизамещенных пиридо[1,2-а]бензимидазолов, обладающих высо-

Бегунов Роман Сергеевич (Begunov Roman Sergeevich), кандидат химических наук, доцент, кафедра органической и биологической химии факультета биологии и экологии ФГБОУ ВПО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», г. Ярославль, begunov@bio.uniyar.ac.ru

Соколов Александр Андреевич (Sokolov Alexander Andreevich), аспирант второго года обучения, специальности 02.00.03, факультет биологии и экологии ФГБОУ ВПО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», г. Ярославль, morose@mail.ru

Шебунина Татьяна Викторовна (Shebunina Tatyana Viktorovna), магистрант первого года обучения, специальность Химия, факультет биологии и экологии ФГБОУ ВПО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», г. Ярославль, tan4ik2107@mail.ru

Калина Светлана Александровна (Kalina Svetlana Alexandrovna), студентка 3 курса, специальность Химия, факультет биологии и экологии ФГБОУ ВПО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», г. Ярославль, svetlana_kalina1993@mail.ru

Башкирова Александра Александровна (Bashkirova Alexandra Alexandrovna), студентка 3 курса, специальность Химия, факультет биологии и экологии ФГБОУ ВПО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», г. Ярославль, yarchemlab@gmail.com

кой интеркалирующей активностью в молекулы ДНК [5].

Материалы и методы исследования. Материалом для генотоксикологического теста стали несколько гетероциклических веществ, полученных по разработанной нами методике [6]: 7-трифторметилпиридо[1,2-а]бензимидазол (1), 7-нитропиридо[1,2-а]бензимидазол (2), 7-аминопиридо[1,2-а]бензимидазол (3), 8-нитро-7-трифторметилпиридо[1,2-а]бензимидазол (4), 8-амино-7-трифторметилпиридо[1,2-а]бензимидазол (5) в трех концентрациях: 0,1; 0,01; 0,001 мг/мл. Для оценки величины цитотоксического и мутагенного эффектов новых ДНК-интеркаляторов изучались аналогичные характеристики 9-аминоакридина (6), который часто используется при проведении генетических исследований.

Биотестирование исследуемого материала проводилось методом оценки токсикогенетического действия химических соединений на *Allium cepa* (сорт Штутгартен) [7-8]. Выбор данного тест-объекта обусловлен тем, что, во-первых, он прост в обращении и не требует сложных методик культивирования, во-вторых, позволяет характеризовать изучаемое вещество по нескольким параметрам: мутагенному (учет хромосомных aberrаций) и митотоксическому действию (число делящихся клеток). В-третьих, методики исследования мутагенных факторов с использованием *A. cepa* хорошо отработаны для первичного скрининга потенциальных фармакологически активных препаратов.

Для опыта отбирались одинаковые по размеру и форме луковицы. Предварительно луковицы проращивались на фильтрованной водопроводной воде в течение 1 дня. Затем в опытном варианте луковицы помещались в растворы исследованных соединений с концентрациями 0,1; 0,01; 0,001 мг/мл на трое суток. Для лучшего растворения исследуемых веществ добавляли 0,5 мл ДМСО. Опыт ставился в трех повторностях и сопровождался интактным контролем. Срезанные корешки помещали на 72 часа в фиксатор Клар-

ка (96 % этиловый спирт и ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1). Окраска корешков производилась 2 % ацетоорсеином. Окрашенные корешки отмывали от красителя в 45 % уксусной кислоте. Лезвием отрезали кончик корешка длиной 2-3 мм, помещали на предметное стекло в каплю 45% уксусной кислоты, накрывали покровным стеклом и с помощью спички раздавливали до получения монослоя клеток.

При исследовании мутагенной активности учитывалось: общее количество клеток (около 600); общее число делящихся клеток на стадии ана - телофазы; число клеток с хромосомными aberrациями.

Оценку митотоксического действия и митозомодифицирующей активности проводили на тех же временных препаратах, что и ана-телофазный анализ. Показателем уровня митотической активности являлся митотический индекс (MI, %) - соотношение числа клеток, находящихся в митозе, к общему числу проанализированных на препарате клеток.

Для установления причин изменений MI подсчитывали фазные индексы (ПИ, % - профазный индекс; МИ, % - метафазный индекс; А-ТИ, % - ана-телофазный индекс) - процент клеток в различных стадиях митоза от общего количества делящихся клеток.

Достоверность различий между опытом и контролем оценивали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа и критерия Стьюдента [30]. Отклонение считалось достоверным при $p < 0,05$.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерных программ Excel 2007 и STATISTICA 8.0.

Результаты и обсуждение. В ходе работы было установлено (рис. 2), что соединения 1 - 6 во всех исследуемых концентрациях (кроме 5 при $C = 0,001$ мг/мл) изменяли митотический индекс (MI) по сравнению с контролем (6,3 %). Наибольшее влияние на пролиферацию клеток оказывало вещество 6, которое статистически достоверно сни-

жало MI меристемы при 0,01 и 0,001 мг/мл, а при $C = 0,1$ мг/мл полностью останавливало процессы деления в ткани. Таким образом, 9-аминоакридин обладал более выраженным цитотоксическим действием в диапазоне исследуемых концентраций.

Митотоксический эффект также проявляли структуры: 4, 3, 2, 1, (расположены в порядке уменьшения воздействия на делящиеся клетки).

Наименьшее влияние из

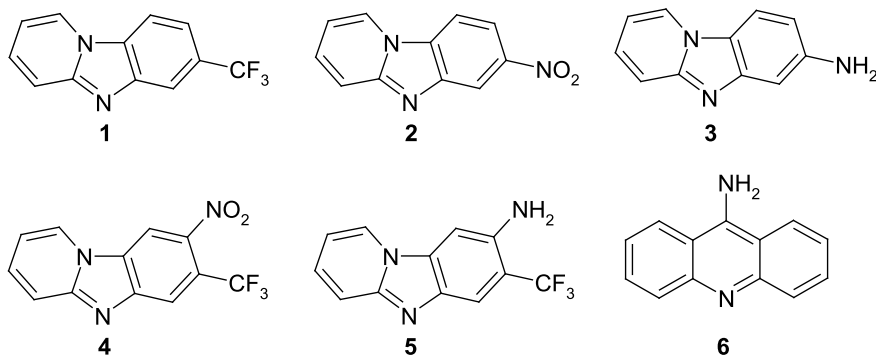


Рис. 1. Структура исследуемых соединений

всех исследованных соединений на меристему корешков *Allium cepa* оказывало 5. Для данного вещества митотический индекс при концентрации 0,001 мг/мл статистически достоверно не отличался от контроля (6,3 %). При концентрациях 0,1 мг/мл и 0,01 мг/мл происходило небольшое уменьшение *MI*.

Для выяснения причин подавления процесса деления клеток тест-системы *Allium cepa*, была проведена оценка продолжительности отдельных фаз митоза – по доли делящихся клеток на каждой стадии. Значения фазных индексов в контроле и в опытных вариантах сведены в таблице 1.

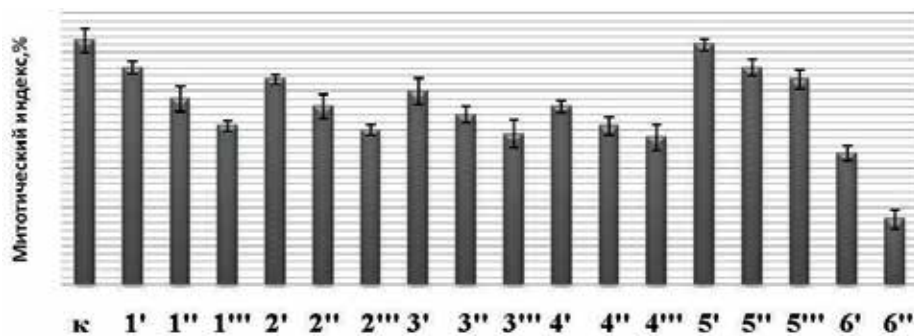


Рис. 2. Митотический индекс в меристеме *Allium cepa* при действии разных концентраций веществ 1-6, где ' – концентрация 0,001 мг/мл, '' – 0,01 мг/мл, ''' – 0,1 мг/мл

Из данных таблицы следует, что все исследуемые вещества в той или иной степени изменяли длительность фаз митоза по сравнению с контролем, причем наблюдалась общая тенденция - уменьшение количества клеток на стадии профа-

Таблица 1

Фазные индексы в меристеме проростков корешков *Allium cepa*, обработанных соединениями 1-6

Соединение	Концентрация, мг/мл	Фазные индексы		
		Профазный индекс, %±m	Митофазный индекс, %±m	Анотелофазный индекс, %±m
Контроль	-	56,75±2,5	19,85±1,96	23,39±2,39
1	0,1	48,5±2,1*	34,1±2,82*	17,4±1,2*
	0,01	53,1±2,33	26,3±2,43*	20,6±2,01
	0,001	54,5±1,56	21,8±2,43	23,7±2,44
2	0,1	47,1±1,5*	34,1±1,71*	18,8±1,3*
	0,01	51,4±2,12*	29,3±1,1*	19,3±1,5*
	0,001	53,2±0,92*	24,6±1,4*	22,2±0,74
3	0,1	52,2±0,3*	28,5±1,2*	19,3±1,31*
	0,01	54,8±0,9	24,6±0,9*	20,6±0,93
	0,001	55,5±1,2	21,2±1,4	23,3±0,89
4	0,1	44,3±0,9*	39,6±2,82*	16,1±1,1*
	0,01	48,2±1,2*	33,1±2,1*	18,7±0,9*
	0,001	52,7±1,5*	26,6±1,2*	20,7±1,45
5	0,1	32,3±0,9*	54,8±0,9*	12,9±1,2*
	0,01	45,9±1,2*	36,9±2*	17,2±1,3*
	0,001	47,5±2,1*	32,9±1,2*	19,6±1,21*
6	0,1	0	0	0
	0,01	45,3±1,4*	39,4±0,9*	15,3±1,11*
	0,001	47,1±2,01*	33,8±0,84*	19,1±1,3*

* - достоверно отличается от контроля, p < 0.05

зы и ана-телофазы и увеличение числа клеток на стадии метафазы.

Монозамещенные пиридо[1,2-а]бензимидазолы 2 и 3 незначительно влияли на фазные индексы по сравнению с контролем, наибольший же эффект оказывали 5 и 6. При концентрации 0,01 мг/мл происходило уменьшение профазного и ана-телофазного индексов в 1,2 и 1,4 раз для 5 и в 1,2 и 1,5 раза для 6.

Снижение профазного индекса говорит о том, что исследуемое соединение воздействует на процессы, происходящие в интерфазу, нарушая процессы подготовки клеток к делению.

Химические вещества, изменяющие относительную продолжительность фаз митоза, могут оказывать мутагенное действие. Поэтому с помощью метода ана-телофазного анализа была установлена способность соединений 1-6 индуцировать хромосомные aberrации в корневой меристеме лука.

Все исследованные концентрации веществ вызывали генетические нарушения в клет-

ках *A. sepa* (табл. 2). Наиболее распространенными оказались патологии типа «мост» - результат объединения хромосом разных дочерних клеток, а также нарушение целостности хромосом (что было зафиксировано по появлению их фрагментов), и потери целых хромосом при делении клеток. Самое большое число хромосомных aberrаций по сравнению с контролем индуцировало 6, увеличивая количество генетических нарушений в 6,4 и 5,2 раз при концентрациях 0,01 мг/мл и 0,001 мг/мл соответственно. Остальные исследованные вещества не оказывали столь сильного мутагенного действия. При этом монозамещенные структуры 1-3 вызывали относительно малое количество генетических нарушений при делении клеток. Соединения 4-5, обладающие двумя функциональными группами, способными образовывать большее количество связей с азотистыми основаниями ДНК, проявляли более сильный мутагенный эффект.

Таблица 2

Частота хромосомных мутаций в клетках корневой меристемы *A. sepa* при воздействии веществ 1-6 (количество учтенных ана-телофаз 200)

Соединение	Концентрация	Хромосомные aberrации, %±m	Хромосомные aberrации+отставания, %±m
Контроль	-	0,7±0,11	1,23±0,23
1	0,1	3,4±0,21*	3,9±0,31*
	0,01	2,1±0,12*	2,9±0,21*
	0,001	1,21±0,31*	2,1±0,24*
2	0,1	3,6±0,11*	4,1±,09*
	0,01	2,4±0,2*	3,1±0,12*
	0,001	1,21±0,21*	2,3±0,13*
3	0,1	3,8±0,16*	4,4±0,09*
	0,01	2,6±0,11*	3,5±0,11*
	0,001	1,34±0,21*	2,7±0,17*
4	0,1	3,4±0,12*	4,7±0,11*
	0,01	2,8±0,11*	3,5±0,09*
	0,01	1,3±0,1*	2,5±0,07*
5	0,1	3,9±0,21*	5,1±0,12*
	0,01	2,9±0,25*	3,8±0,14*
	0,001	1,5±0,12*	2,7±0,21*
6	0,1	0	0
	0,01	4,5±0,12*	7,9±0,15*
	0,001	3,5±0,2*	5,9±0,16*

* - достоверно отличается от контроля, $p < 0.05$

Заключение. По результатам работы был сделан вывод, что замещенные пиридо[1,2-а]бензимидазолы **1-5** оказывают меньшее митотоксическое и мутагенное действие, чем 9-аминоакридин. Поэтому они являются перспективными кандидатами для разработки новых фармакологических

препаратов или химических материалов для проведения тонких генетических исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект № 178 в рамках базовой части государственного задания на НИР ЯрГУ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Favier, M. Blackledge, J.P. Simorre, S. Crouzy, V. Dabouis, A. Gueiffier et al. Solution Structure of 2-(Pyrido[1,2-e] purin-4-yl)amino-ethanol Intercalated in the DNA Duplex d(CGATCG)₂. *Biochemistry*. 2001, 40: 8717-26.

2. M. Sedic, M. Poznic, P. Gehrüg, M. Scott, R. Schlapbach, M. Hranjec et al. Differential antiproliferative mechanisms of novel derivative of benzimidazo[1,2-a] quinoline in colon cancer cells depending on their p53 status. *Mol Cancer Ther.*

2008, 7: 2121-32.

3. M. F. Brana, M. Cacho, A. Gradillas, B. Pascual-Teresa, A. Ramos. Intercalators as anticancer drugs. *Curr. Pharm. Des.* 2001, 7(17): 1745-80.

4. N.J. Wheate, J.G. Collins, S. Kemp, J.R. Aldrich-Wright, C.R. Brodie. DNA intercalators in cancer therapy: organic and inorganic drugs and their spectroscopic tools of analysis. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2007, 7 (6): 627-48.

5. О. А. Рачинская, К. В. Попов, Г. А. Рызванович, Н. Л. Большева, Р. С. Бегунов, О. Ю. Юркевич, А. В. Зеленин, О. В. Муравенко. Повышение разрешающей способности хромосомного анализа с помощью пиридо[1,2-а]бензимидазолов. *Генетика*. 2012, 10: 1228-36.

6. Г. А. Рызванович, Р. С. Бегунов, О. А. Рачинская, О. В. Муравенко, А. А. Соколов. Синтез и интеркалирующая активность новых пиридо[1,2-а]бензимидазолов. *Химиико-фармацевтический*

журнал. 2011, 3: 13-15.

7. M. Cabaravdic. Induction of chromosome aberrations in the Allium cepa test system caused by the exposure of cells to benzo(a)pyrene. *Med.Arh.* 2010, 64(4): 215-8.

8. K.Y. Ping, I. Darah, U. K. Yusuf, C. Yeng, S. Sasidharan. Genotoxicity of Euphorbia hirta: An Allium cepa Assay. *Molecules*. 2012, 17: 7782-91.

REFERENCES

1. A. Favier, M. Blackledge, J.P. Simorre, S. Crouzy, V. Dabouis, A. Gueiffier et al. Solution Structure of 2-(Pyrido[1,2-e] purin-4-yl)amino-ethanol Intercalated in the DNA Duplex d(CGATCG)₂. *Biochemistry*. 2001, 40: 8717-26.

2. M. Sedic, M. Poznic, P. Gehrüg, M. Scott, R. Schlapbach, M. Hranjec et al. Differential antiproliferative mechanisms of novel derivative of benzimidazo[1,2-a] quinoline in colon cancer cells depending on their p53 status. *Mol Cancer Ther.*

2008, 7: 2121-32.

3. M. F. Brana, M. Cacho, A. Gradillas, B. Pascual-Teresa, A. Ramos. Intercalators as anticancer drugs. *Curr. Pharm. Des.* 2001, 7(17): 1745-80.

4. N.J. Wheate, J.G. Collins, S. Kemp, J.R. Aldrich-Wright, C.R. Brodie. DNA intercalators in cancer therapy: organic and inorganic drugs and their spectroscopic tools of analysis. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2007, 7 (6): 627-48.

5. O.A. Rachinskaya, K.V. Popov, G.A. Ryzvanovich, N.L. Bol'sheva, R.S. Begunov, O.Yu. Yurkevich et al. Increasing the resolution of chromosome analysis using pyrido[1,2-a]benzimidazoles. *Russian Journal of Genetics*. 2012, 10: 1055-62. (in Russian)

6. G.A. Ryzvanovich, R.S. Begunov, O.A. Rachinskaya, O.V. Muravenko, A.A. Sokolov. Synthesis and intercalation ability of new pyrido[1,2-a] benzimidazoles. *Pharm. Chem. J.* 2011,

45: 141-43. (in Russian)

7. M. Cabaravdic. Induction of chromosome aberrations in the Allium cepa test system caused by the exposure of cells to benzo(a)pyrene. *Med.Arh.* 2010, 64(4): 215-8.

8. K.Y. Ping, I. Darah, U. K. Yusuf, C. Yeng, S. Sasidharan. Genotoxicity of Euphorbia hirta: An Allium cepa Assay. *Molecules*. 2012, 17: 7782-91.

R.S. Begunov, A.A. Sokolov, T.V. Shebunina, S.A. Kalina, A.A. Bashkirova

EVALUATION OF CYTOTOXICITY AND GENOTOXICITY OF NEW SUBSTITUTED PIRYDO [1,2-A] BENZIMIDAZOLES USING THE ALLIUM TEST

Federal State Budgetary Educational Institution of Additional Higher Education «P.G.Demidov Yaroslavl State University», 150000, Yaroslavl, Russian Federation

Investigations were carried out into mutagenic and mitosis modifying action (Allium test) of imidazole new polycyclic condensed derivatives having a high ability to embed into DNA molecules: 7-trifluor methyl pyrido [1,2-a] benzimidazole, 7- nitropyrido[1,2-a] benzimidazole, 7- amino pyrido [1,2- a] benzimidazole, 8-nitro- 7-trifluor methyl pyrido[1,2-a]benzimidazole, 8-amino- 7-trifluor methyl pyrido[1,2-a] benzimidazole. The evaluation of cytotoxic effect of compounds under investigation was performed by comparing with toxicological characteristics of a widely used DNA –intercalator 9-amino acridine. All azagetero cycles induced reduction of the prophase index evidencing their impact on the process of DNA replication. The most wide spread mutations were “bridge” type pathologies as a result of reunion of different daughter cells chromosomes and obliteration and losses of entire chromosomes at cells division. All mono- and di-substituted pirido[1,2-a] benzimidazoles produced a lesser mitodepressive and mutagenic action than 9-amino acridine. Monosubstituted pirido[1,2-a]benzimidazoles had lesser cytotoxicity and mutagenicity in the A cepa test-system.

Keywords: cytotoxicity, mutagenicity, mito modifying effect, the Allium test, pirido[1,2-a] benzimidazoles, DNA-intercalators.

Переработанный материал поступил в редакцию 26.01.2015 г.

УДК 546.766 : 611.42

ВЛИЯНИЕ БИХРОМАТА КАЛИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРЫС ВИСТАР

*А.И. Смолягин, И.В. Михайлова,
Е.В. Ермолина, А.А. Стадников,
В.М. Боев*

ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная
медицинская академия» Минздрава РФ,
460000, г. Оренбург, Российская Федерация

В условиях хронического эксперимента (135 сут) исследовали влияние бихромата калия (в дозе 1 ПДК) на морфологические и иммунологические параметры лимфоидных органов крыс Вистар. Длительное поступление хрома в организм крыс Вистар приводит к снижению массы тимуса и числа тимоцитов, вызывает комплекс структурно-функциональных изменений, свидетельствующих о статусе акцидентальной инволюции, лимфоретикулярной гиперплазии и плазмоцитарно-макрофагальной трансформации лимфатических узлов и селезенки, индуцирует программированную гибель тимоцитов и лимфоцитов в Т-зонах селезенки и лимфатических узлах. Хром вызывает морфофункциональные изменения в селезенке, характеризующиеся снижением ее массы и количества спленоцитов, клеток лимфоидного ряда и, напротив, увеличением клеток эритроидного ряда. Влияние хрома на костный мозг проявлялось в снижении уровня миелоидного ряда, нейтрофилов и, напротив, в увеличении количества лимфоидных клеток, а также содержания эритроидных клеток.

Ключевые слова: хром, лимфоидные органы, крысы.

Введение. Одним из актуальных направлений в современной токсикологии является определение параметров хронического влияния различных токсикантов в эксперименте и клинике. Одной из наиболее чувствительных систем организма, чутко реагирующей на контакт с химическими веществами, является система иммунитета. Поэтому иммунная система может выступать как показатель воздействия на организм различных антропогенных факторов, т.е. быть чувствительной индикаторной системой наличия в регионе экологически неблагоприятной ситуации. В задачи современной иммуноморфологии входит установление морфофункциональных изменений в лимфоидной ткани при длительном воздействии различных экотоксикантов неорганической и органической природы, одним из которых являются соединения хрома. Основными промышленными источниками хрома являются производство цветных ме-

таллов, удобрений, автомобильное, нефтехимическое производство [1]. В этой связи представляет интерес исследование морфологических параметров иммунной системы, как мишени воздействия ксенобиотиков, в условиях длительного хронического влияния хрома в эксперименте.

Целью настоящей работы явилась комплексная оценка воздействия бихромата калия на морфологические и иммунологические параметры лимфоидных органов крыс Вистар в динамике хронического эксперимента.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования проведены на здоровых половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 250-300г. Все животные, включенные в исследование, содержались на стандартном пищевом рационе и были разделены на 2 группы. Животные 1-ой группы вместе с питьевой водой, перорально получали бихромат калия («Полихим», Россия) из расчёта 20 мг/кг.

Смолягин Александр Иванович (Smolyagin Aleksandr Ivanovich), доктор медицинских наук, профессор, заведующий проблемной лабораторией по изучению механизмов естественного иммунитета Оренбургской государственной медицинской академии Минздрава РФ, 460000, г. Оренбург, probllab.orenburg@mail.ru

Михайлова Ирина Валерьевна (Mikhaylova Irina Valer'evna), доктор биологических наук, доцент кафедры химии и фармацевтической химии Оренбургской государственной медицинской академии Минздрава РФ, 460000, г. Оренбург, mikhaylova74@yandex.ru

Ермолина Евгения Вячеславовна (Ermolina Evgenija Vjacheslavovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник проблемной лаборатории по изучению механизмов естественного иммунитета Оренбургской государственной медицинской академии Минздрава РФ, 460000, г. Оренбург, probllab.orenburg@mail.ru

Стадников Александр Абрамович (Stadnikov Aleksandr Abramovich), доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии эмбриологии, 460000, г. Оренбург, k_histology@orgma.ru

Боев Виктор Михайлович (Boev Viktor Mihajlovich), доктор медицинских наук, профессор, ректор Оренбургской государственной медицинской академии Минздрава РФ, 460000, г. Оренбург, probllab.orenburg@mail.ru

Доза токсиканта соответствовала одной ПДК [2]. Животные 2-й группы (контроль), содержались в том же виварии и получали воду. Через 45, 90 и 135 суток животные выводились из эксперимента летальной дозой эфирного наркоза. Результаты, полученные у животных первой группы в каждой серии экспериментов, достоверно не отличались между собой, что позволило объединить их и использовать в качестве контроля. Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1985), и «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 г. № 708н).

Морфологические исследования проводились на 5 животных опытной и 5 крысах контрольной групп на 45-е, 90-е и 135-е сутки с использованием общепринятых морфометрических, гистологических и электронно-микроскопических методов исследования. Для определения экспрессии проапоптотического белка p53 и антиапоптотического белка bcl2 использовали стрептавидин-биотиновый пероксидазный метод [3].

Для проведения иммунологических исследований у 120 животных (по 60 в каждой группе) на 45-й, 90-й и 135-й день эксперимента определяли массу тимуса и селезенки, а также количество ядродержащих клеток в тимусе, селезенке и костном мозге; оценивали клеточный состав селезенки и костного мозга в соответствии с лабораторными методами исследования экспериментальных животных [4]. Результаты проведенных исследований обработаны методами параметрической статистики с использованием пакета программ для ПК «Microsoft Excel 7.0,» «STATISTICA 10.0».

Результаты и обсуждение. При морфологической характеристике тимуса у крыс опытной группы во все сроки наблюдений отмечен комплекс структурно-функциональных изменений, свидетельствующих о статусе акцидентальной инволюции органа. Это проявлялось в выраженной клеточной реорганизации паренхимы и стромы, ультраструктурных повреждениях цитоплазматических компонентов, увеличении деструктивных форм тимоцитов, существенном снижении их числа в корковом веществе долек тимуса, увеличении числа телец Гассалья и адипоцитов, фибриллогенезе стромы органа, реактивных изменениях сосудов микроциркуляции, снижении количества функционально специализированных ретикулоэпителиоцитов и их взаимодействий с Т-лимфоцитами. Данные изменения со всей очевидностью приводят к функциональному расстройству центрального звена иммунной системы.

Гистологическое изучение селезенки крыс опытной группы на 45-й, 90-й и 135-й день эксперимента показало выраженное полнокровие трабекулярных и пульпарных сосудов, а также увеличение размеров лимфоидных фолликулов. Гиперпластическая реакция герминативных зон сочеталась с накоплением в них плазматических и макрофагов. Морфометрический анализ показал увеличение размеров белой пульпы селезенки (табл.1) за счет возрастания территории В-зон. Значимого возрастания Т-зависимых (периартериальных) зон не происходило.

При структурно-функциональной оценке лимфатических узлов крыс 2-й группы во все сроки эксперимента было установлено увеличение размеров лимфатических узлов и резкое их полнокровие, приводящее к дискомплексации клеточных элементов.

Таблица 1

Морфометрические показатели белой пульпы селезенки крыс Вистар при влиянии хрома (мкм)

Показатели	1 группа			2 группа
	45-е сутки	90-е сутки	135-е сутки	
Герминативный центр (В-зона)	892,6±8,7*	910,6±4,3*	1010,6±4,7*	810,8±10,6
Периартериальные влаглища (Т-зона)	181,6±3,6*	189,9±4,1	200,6±3,6	196,7±4,6

* - обозначены достоверные отличия ($p < 0,05$) по отношению к контролю

Ультраструктурный анализ паракортикальной зоны выявил нарушения внутриклеточных компартментов ретикулярных клеток и лимфоцитов. В цитоплазме регистрировались мелкие митохондрии с признаками разрушения крист, а также появлялись липосомы. Иммуноцитохимические исследования показали, что воздействие хрома индуцирует программированную гибель тимоцитов (табл. 2) и лимфоцитов в Т-зонах селезенки (периартериальная муфта) и лимфатических узлов (паракортикальная зона). На ультраструктурном уровне выявлены апоптотические тимоциты и лимфоциты Т-зависимых зон селезенки и лимфатических узлов с характерными изменениями их ядер и цитоплазмы. В поздние сроки эксперимента (90 и 135 сут) установлено, что апоптозу подлежат не только одиночные клетки, но и их скопления. При этом апоптотические дискретные тельца не подвергаются фагоцитозу, а чаще всего находятся в окружении индексных стромальных элементов, которые иногда формируют кистозные полости. Появление подобных апоптотических клеток и их группировок свидетельствует, скорее всего, о межклеточной индукции программированной клеточной гибели. В своей совокупности полученные сведения свидетельствуют о понижении активности Т-лимфоцитов, что отражает, очевидно, состояние Т-клеточного иммунодефицита.

Вероятно, это происходит на фоне дисфунк-

ции иммуноцитов (в частности В-клеточные зоны проявляли морфологические признаки гиперреактивности). Таким образом, развивающаяся морфологическая картина у экспериментальных животных свидетельствует о содружественной реактивности центральных и периферических органов иммуногенеза. Данная реактивность проявляется лимфоретикулярной гиперплазией и плазмочитарно-макрофагальной трансформацией лимфатических узлов и селезенки. Фенотипически отслеженные эти реакции «выходят» за пределы тимико-лимфоидной системы. Причем, динамика поражений указанных органов соответствует интенсивности их инфильтрации полиморфноядерными лейкоцитами, тучными клетками, характеризующими неспецифический клеточный компонент воспалительной реакции.

При исследовании влияния бихромата калия на лимфоидные органы крыс (табл.3) установлено снижение массы органа и количества клеток тимуса, селезенки крыс опытной группы преимущественно в поздние сроки эксперимента, а также изменения клеточного состава селезенки (уменьшение абсолютного количества клеток лимфоидного ряда, плазматических клеток и, напротив, повышение содержания клеток эритроидного ряда на 90-е сутки). В костном мозге наблюдалось снижение клеток миелоидного ряда, числа нейтрофилов и увеличение количества лимфоидных

Таблица 2

Содержание проапоптотического белка p53 и антиапоптотического белка bcl2 в органах иммунной системы крыс Вистар при действии хрома (промилли)

Показатели	1 группа			2 группа
	45 сут	135 сут	90 сут	
Тимус (кортикальная зона)	2,8±0,08 *	0,05±0,01(p53)	3,1±0,07*	4,6±0,09*
	3,3±0,06*	1,07±0,02(bcl2)	4,1±0,11*	5,1±0,06*
Селезенка (периартериальная зона)	3,1±0,08*	0,03±0,01(p53)	4,3±1,12*	4,9±0,06*
	4,1 ±0,07*	0,91±0,03(bcl2)	4,8±0,09*	5,0±0,11 *
Лимфатические узлы (паракортикальная зона)	3,2±1,11*	0,08±0,01(p53)	5,6±1,22*	6,7±0,18*
	3,9±0,97*	0,11±0,05(bcl2)	4,9±0,76*	5,9±0,22*

* – обозначены достоверные отличия ($p < 0,05$) по отношению к контролю

Таблица 3

Количество ядросодержащих клеток в лимфоидных органах крыс Вистар при влиянии хрома ($M \pm m$)

Показатели		1 группа			2 группа
		45-е сутки	90-е сутки	135-е сутки	
Тимус	масса, мг (n)	234 ± 14 (30)	250 ± 14 (22)	164±6,97*,** (13)	247 ± 8 (54)
	число тимоцитов на орган, × 10 ⁶	411 ± 30 (30)	371 ± 33 (22)	195±9*,** (13)	434 ± 23 (54)
Селезенка	масса, мг	1000 ± 31 (40)	1076 ± 22** (22)	757±28*,** (13)	1042 ± 20 (54)
	число кариоцитов на орган, × 10 ⁶	1039 ± 41 (40)	1002 ± 60 (22)	589±22*,**, # (13)	1031 ± 30 (54)
Костный мозг, число кариоцитов на орган, × 10 ⁶		84 ± 3,73 (21)	70 ± 1,31*, ** (22)	83±2,34# (13)	79 ± 3,12 (54)

* – обозначены достоверные отличия ($p < 0,05$) по отношению к контролю, ** – 45 и 90 дней, 45 и 135 дней, # – 90 и 135 дней.

клеток, а также содержания эритроидных клеток.

Установленное нами снижение массы тимуса и числа тимоцитов крыс опытной группы во все сроки наблюдений может быть обусловлено перераспределением тимоцитов в связи с необходимостью пополнения пула лимфоцитов в периферической крови и периферических лимфоидных органах [5]. С другой стороны, причиной снижения количества клеток в тимусе может быть выявленное нами, особенно на 135 сутки исследования, значительное увеличение уровня проапоптотического белка p53 в кортикальной зоне тимуса. Одним из механизмов опустошения селезенки может быть угнетение пролиферации лимфоидных клеток, то есть убыль числа клеток может зависеть от их естественной миграции из органа на фоне сниженного воспроизводства [6]. Увеличение относительного и абсолютного числа клеток лимфоидного ряда в костном мозге, выявленное в миелограмме, можно объяснить поступлением лимфоцитов за счет клеток тимуса или селезенки, установленное в эксперименте, что обусловлено их мобилизацией и перераспределением в связи с необходимостью пополнения пула лимфоцитов

в данном органе [7,8]. Вместе с тем, увеличение количества лимфоидных клеток происходит за счет миграции в костный мозг внекостномозговых лимфоцитов, необходимой для стимуляции гемопоэза. Снижение количества миелоидных клеток и нейтрофилов, возможно, связано с механизмом мобилизации нейтрофилов из костного мозга в кровотоки. Причина уменьшения клеточности в лимфоидных органах может быть связана также с прямым повреждающим действием хрома на клетки, нарушающим энергетический обмен и приводящим к энергетическому дефициту [8]. Кроме того, в основе всех выявленных изменений может лежать активация процессов свободно-радикального окисления (СРО), так как известно, что одним из механизмов повреждения клеток является чрезмерная активация цепных свободно-радикальных реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) [6,9].

Заключение. Таким образом, длительное действие хрома на органы иммунной системы крыс Вистар проявляется: в снижении массы тимуса и числа тимоцитов, в том числе за счет индукции программированной гибели тимоцитов, в формировании комплексно-структурно-функциональных изменений тимуса,

свидетельствующих об акцидентальной инволюции органа (выраженная клеточная реорганизация паренхимы и стромы, увеличения деструктивных форм тимоцитов, существенном снижении их числа в корковом веществе долек тимуса, снижении количества функционально специализированных ретикулоэпителиоцитов), а также в усилении апоптоза лимфоци-

тов в Т-зонах селезенки и лимфатических узлах; снижении массы селезенки и количества спленоцитов (за счет клеток лимфоидного ряда) и уменьшения уровня клеток миелоидного ряда, нейтрофилов и, напротив, в увеличении на протяжении всех сроков наблюдения количества лимфоидных клеток, а также содержания эритроидных клеток в костном мозге.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ревич Б. А. К оценке влияния деятельности ТЭК на окружающую среду и здоровье населения. Проблемы прогнозирования. 2010; 4:87-99.
2. ГН 2.1.5.2280-07 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования». М.: Роспотребнадзор; 2008.

3. Киясов А. П. Современные технологии морфологических исследований: Методическое пособие для студентов, аспирантов и врачей-патологов. Казань: КГМУ; 2001.
4. Волчегорский И. А., Долгушин И. И., Колесников О. Л., Цейликман В. Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск: ЧГПУ;

2000.
5. Ярилин А. А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
6. Курляндский Б. А., Филов В. А., ред. Общая токсикология. М.: Медицина; 2002.
7. O'Brien P., Kortenkamp A. Chemical models important in understanding the ways in which chromate can damage DNA. Environ Health Perspect. 1994;

102 (Suppl. 3): S 3-10.
8. Изтлеутов М. К. Патогенез нарушений гомеостаза, вызванных избыточным поступлением хрома в организм, и пути их коррекции: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2004.
9. Valko M., Morris H., Cronin M. T. Metals, toxicity and oxidative stress. Curr. Med. Chem. 2005; 12:1161-1208.

REFERENCES:

1. Revich B.A. To assess the impact of FEC on the environment and human health. Problemy prognozirovaniya. 2010; 4:87-99 (in Russian).
2. GN 2.1.5.2280-07. Maximum permissible concentration (MPC) of chemicals in water of the economy-drinking and cultural-everyday objects. Moscow : Rospotrebnadzor; 2008 (in Russian).

3. Kiyasov A.P. Modern technology of the morphological studies: Toolkit for students, post-graduate and doctors-pathologists. Kazan': KGMU; 2001 (in Russian).
4. Volchegorskij I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Cejlikman V.Je. Experimental modeling and laboratory evaluation of the adaptive reactions. Cheljabinsk: ChGPU; 2000 (in Russian).

5. Yarin A.A. Immunology. Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (in Russian).
6. Kurlyandskiy B.A., Filov V.A., red. General Toxicology. Moscow: Meditsina; 2002 (in Russian).
7. O'Brien P., Kortenkamp A. Chemical models important in understanding the ways in which chromate can damage DNA. Environ Health Perspect. 1994; 102 (3): 3-10.

8. Iztleutov M.K. Patogenez of violations of the homeostasis caused by excess intake of chrome in an organism, and ways of their correction: Dr. med. sci. diss. Moscow ; 2004 (in Russian).
9. Valko M., Morris H., Cronin M. T. Metals, toxicity and oxidative stress. Curr. Med. Chem. 2005; 12:1161-1208.

A.I. Smolyagin, I.V. Mikhaylova, E.V. Ermolina, A.A. Stadnikov, V.M. Boev

INFLUENCE OF POTASSIUM BICHROMATE ON MORPHOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF WISTAR RATS

State Budgetary Educational Institution «Orenburg State Medical Academy», Ministry of Health of Russia, 460000 Orenburg, Russian Federation

The impact of Potassium Bichromate (at 1 MAC dose) on morphological and immunological parameters of Wistar rats lymphoid organs was investigated in a chronic experiment (135 days). A lasting uptake of chromium by the Wistar rat organism induces a decrease of thymus mass and thymocytes number, causes a complex of structural and functional alterations evidencing about the status of accidental involution, lymphoreticular hyperplasia and plasmocytic and macrophage transformation of lymphoid nodes and spleen, induces a programmed death of thymocytes and lymphocytes in splenic T-zones and lymphoid nodes. Chromium induces morpho-functional changes in spleen shown by decrease in its weight and number of splenocytes, lymphoid series cells and on the contrary by increase of erythroid series cells. The impact of chromium on the bone marrow was evident in a decreased level of myeloid series, neutrophils and on the contrary in increased amount of lymphoid cells and the content of erythroid cells as well.

Keywords: Chromium, lymphoid organs, rats .

Переработанный материал поступил в редакцию 05.02.2015 г.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК: 628.394.6:57/.59

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА BARAKOR 100 ДЛЯ ГИДРОБИОНТОВ

А.С. Федотов

Федеральное агентство по рыболовству
Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение Всероссийский научно-
исследовательский институт рыбного хозяйства
и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»), 107140,
г. Москва, Российская Федерация

Проведена оценка токсичности препарата BARAKOR 100 для стандартных тест-объектов: фитопланктонных организмов – *Phaeodactylum tricornutum* Bohin; зоопланктонных организмов – *Artemia salina* и рыб, односуточных организмов (мальков) – *Poecilia reticulata* Peters. Для оценки токсического эффекта для гидробионтов использовали показатели медианных летальных концентраций ($ЛК_{50}$), характеризующие изменение выживаемости (гибель) организмов на 50% за определенное время – 24, 48 и 96 часов ($ЛК_{50}/24; 48; 96ч$). По результатам оценки токсичности препарата установлено: препарат BARAKOR 100 относится к очень слаботоксичным веществам.

Ключевые слова: препарат, фитопланктон, зоопланктон, рыба, токсичность.

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

Цель работы: оценка токсичности препарата BARAKOR 100 для стандартных морских тест-объектов.

Задачи: – оценка токсичности препарата для фитопланктонных организмов – *Phaeodactylum tricornutum* Bohin; – оценка токсичности препарата для зоопланктонных организмов – *Artemia salina*; – оценка токсичности препарата для рыб,

односуточных организмов (мальков) – *Poecilia reticulata* Peters.

Материалы и методы исследования. BARAKOR 100 предназначен для применения в нефтедобывающей промышленности и представляет собой жидкость коричневого цвета с запахом спирта [3].

Исследование токсичности препарата проводили в соответствии с «Руководством по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов» (утверждено МПР России, 27 апреля 2001 г.), изд. РЭФИ, НИА-Природа, М., 2002 г [5]. Руководство включено в область аккредитации лаборатории.

Все исследования проведены в лабораторных условиях ВНИРО на искусственной морской воде соленостью 20‰.

Для исследований на фитопланктоне в качестве стандартного морского тест-объекта использовали альгологически чистую культуру морских одноклеточных диатомовых водорослей – *Phaeodactylum tricornutum* Bohin. В опыт брали культуру в экспоненциальной фазе роста.

Повторность в опыте и контроле трехкратная. Начальная плотность клеток в эксперименте 20 000 тыс.кл./мл. Длительность эксперимента 3 суток (72 ч), освещение 3000 лк, температура $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 12ч световой режим в климатостате.

Для определения пригодности культуры одноклеточных водорослей для биотестирования определяли LK_{50} (96 часов) стандартного вещества $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ для *Ph. tricorutum*. LK_{50} $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ равна 5,8 мг/л, что укладывается в диапазон реагирования для данного вида водорослей (4,8 – 6,7 мг/л).

На фитопланктонных организмах в течение трех суток исследовали изменение численности клеток водорослей при различных концентрациях препарата. Определяли полуэффективную концентрацию препарата (ЭК_{50} за 72ч) [1]. Полуэффективная концентрация (ЭК_{50}) препарата вызывает изменение параметров жизнедеятельности фитопланктонных организмов (изменение численности клеток) на 50% за определенное время. Показатели жизнедеятельности микроводорослей оценивали экспресс-методом по изменению флуоресценции клеток водорослей на приборе «Флюорат 02-3М». Определение изменения численности клеток проводили в ка-

мере Горяева под микроскопом. Численность живых клеток водорослей коррелировала с показателями флуоресценции водорослей. В эксперименте замеры численности клеток проводили ежедневно.

Для исследований на зоопланктонных организмах использовали стандартный морской тест-объект – эвригалинные жаброногие рачки *Artemia salina*. В опыт брали односуточных рачков, длительность эксперимента – 2 и 4 суток (48 и 96ч). В остром эксперименте рачков не кормили.

Для определения пригодности культуры артемий для биотестирования определяли LK_{50} (72 часа) стандартного вещества $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ для артемий. LK_{50} равна 7,1 мг/л, что укладывается в диапазон реагирования артемий (6,9 – 8,0 мг/л) на стандартное вещество.

Определяли полулетальные концентрации ($\text{LK}_{50}/48$ и 96ч) препарата [4]. Полулетальные концентрации (LK_{50}) вызывают изменение выживаемости зоопланктонных организмов (гибель) на 50% за 48 и 96 часов.

Rocillia reticulate Peters – группы, Для проведения ихтиотоксикологических исследований исполь-

Таблица 1

Изменение динамики численности клеток *Phaeodactylum tricorutum* при остром воздействии препаратом BARAKOR 100, экспозиция 72 часа

Концентрация, мг/л	Сутки опыта		
	1	2	3
Контроль	6.5	11.67	35.5
0,25	6.5	11.67	35.5
1,0	6.17	11.07	35.53
5,0	6.17	10.90	35.33
25,0	6.30	10.87	35.33
100,0	6.33	11.00	34.33
500,0	5.83	10.63	31.93
2500,0	3.17	4.97	6.03
% от контроля			
Контроль	100	100	100
0,25	100	100	100
1,0	94,9	94,9	100
5,0	94,9	93,4	99,5
25,0	96,9	93,1	99,5
100,0	97,4	94,3	96,7
500,0	89,7	91,1	90,0
2500,0	48,7	42,6	17,0

зается широко распространенная аквариумная живородящая рыбка – *Poecilia reticulata* Peters – гуппи. Гуппи выдерживают значительные колебания солености, в природе встречаются как в пресных, так и осолоненных водах.

В опыте использовали высокочувствительных односуточных мальков данных рыб. Исследование препарата проводили в аквариальной, с использованием рассеянного света и естественного светового периода. Длительность биотестирования водной вытяжки составляла 4 суток (96 ч). Во время биотестирования рыб не кормили. Температура анализируемой пробы 20-22°C, концентрация растворенного кислорода 8,6 мг/дм³. Соотношение воды и иктиомассы составляло менее 1,5 г в литре, на каждую концентрацию приходилось по 10 экземпляров рыбок в опытах и контроле.

Физиологическую активность рыб проверяли по стандартному веществу – калию двухромовокислороду. ЛК₅₀ K₂Cr₂O₇ за 24 ч составила 127,0 мг/дм³ (что укладывается в диапазон требуемых концентраций 106–175 мг/дм³).

Определяли полулетальную концентрацию (ЛК₅₀/96 ч) препарата [4]. Полулетальные концентрации (ЛК₅₀) вызывают изменение выживаемости односуточных мальков рыб (гибель) на 50% за 96 часов.

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

Степень острой токсичности препарата для гидробионтов оценивали согласно классификации Лесникова Л. А. и Врочинского К. К. [2].

Результаты и обсуждение. Согласно представленным в таблице 1 данным видно, что концентрации препарата BARAKOR 100 0,25 – 100,0 мг/л не оказывают токсического влияния на жизнедеятельность фитопланктона. Концентрации 500,0 – 2500,0 мг/л статистически достоверно угнетают развитие фитопланктона, снижая численность клеток водорослей в концентрациях 0,25 – 100,0 мг/л находились на уровне контрольных величин на протяжении всего опыта.

Расчетная полуэффективная концентрация препарата BARAKOR 100 за трое суток (ЭК₅₀/72ч) составила 1506,0 мг/л.

Из представленных в таблице 2 данных видно, что в концентрациях препарата BARAKOR 100 1,0 и 2500,0 мг/л не отмечено гибели артемий в течение 4 суток. Выживаемость рачков в диапазоне исследованных концентраций препарата от 1,0 до 2500,0 мг/л составила 100%.

Расчетные полулетальные концентрации препарата BARAKOR 100 для артемий за 2 и 4 суток (ЛК₅₀/48 и 96ч) >2500,0 мг/л.

Таблица 2

Изменение динамики выживаемости *Artemia salina* в различных концентрациях препарата BARAKOR 100, экспозиция 96 ч, n = 20

Концентрация мг/л	Сутки опыта			
	1	2	3	4
Контроль	20	20	20	20
1,0	20	20	20	20
5,0	20	20	20	20
25,0	20	20	20	20
100,0	20	20	20	20
500,0	20	20	20	20
2500,0	20	20	20	20
% от контроля				
Контроль	100	100	100	100
1,0	100	100	100	100
5,0	100	100	100	100
25,0	100	100	100	100
100,0	100	100	100	100
500,0	100	100	100	100
2500,0	100	100	100	100

Таблица 3

Изменение динамики выживаемости (%) односуточных *Poecilia reticulata* Peters в различных концентрациях препарата BARAKOR 100, экспозиция 96 ч, n = 30

Концентрация, мг/л	Сутки опыта			
	1	2	3	4
Контроль	30	30	30	30
100,0	30	30	30	30
500,0	30	30	30	30
1000,0	30	30	30	30
2500,0	30	30	30	30
5000,0	30	30	27	25
10000,0	28	25	21	16
% от контроля				
Контроль	100	100	100	100
100,0	100	100	100	100
500,0	100	100	100	100
1000,0	100	100	100	100
2500,0	100	100	100	100
5000,0	100	100	90,0	83,3
10000,0	93,3	83,3	70,0	53,3

Таблица 4

Обобщенные данные результатов исследования токсичности препарата BARAKOR 100 для гидробионтов

Название препарата	Фитопланктон (ЛК ₅₀ /72 ч), мг/л	Зоопланктон ЛК ₅₀ /48 ч/96 ч, мг/л	Рыба (односуточные группы), ЛК ₅₀ /96 ч, мг/л	Слабое звено
BARAKOR 100	1506,0	>2500,0/>2500,0*	10700,0	Фитопланктон (1506,0 мг/л)

Примечание: *числитель ЛК₅₀/48 ч, знаменатель ЛК₅₀/96 ч

Из представленных в таблице 3 данных видно, что в концентрациях препарата BARAKOR 100 100,0–2500,0 мг/л не отмечено гибели рыб в течение 4 суток. Концентрации 5000,0 и 10000,0 мг/л статистически достоверно снижают выживаемость подопытных рыб по сравнению с контролем от 10 до 46,7%.

Расчетная полуметальная концентрация препарата BARAKOR 100 за 96 часов (ЛК₅₀/96ч) для рыб составила 10700,0 мг/л.

Представленные в таблице 4 обобщенные данные свидетельствуют о том, что для препарата BARAKOR 100 наиболее слабым тест-организмом из трех исследованных (фито-, зоопланктон, рыбы) являются фитопланктонные организмы – *Phaeodactylum tricornutum*, для которых получе-

на наименьшая полуметальная концентрация 1506,0 мг/л.

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

– препарат BARAKOR 100 оценивается как очень слаботоксичный (ЛК₅₀ >500,0 мг/л) для водных организмов (ЛК₅₀ для фитопланктонных организмов 1506,0 мг/л).

В таблице 4 дополнительно внесена рассчитанная по экспериментальным данным для зоопланктона ЛК₅₀/48 ч (учитывая требования Федерального закона от 21.06.1997г 116-ФЗ «О промышленной безопасности опасных производственных объектов (с изменениями от 07.08.2000 г., 10.01.2003 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Рига: Изд. АН Латвийской ССР, 1963.
2. Методические указания по рыбохо-

зяйственной оценке пестицидов. – Л: ГосНИОРХ, 1973.
3. Паспорт безопасности вещества (материала)/ BARAKOR 100. – М: Компания «Халлибуртон Интернэшнл, Инк.», 2014.

4. Прозоровский В. Б. Использование метода наименьших квадратов для про- бит-анализа кривых летальности. В кн.: Фармакология и токсикология. – М., 1962.
5. Руководство по определению методом

биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов: Утв. МПР России 27 апреля 2001г. – М.; РФФИ, НИИ-Природа, 2002.

REFERENCES:

1. Belenky M.L. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. – Riga: publishing AN Latviskoi SSR, 1963 (in Russian).
2. Guidelines for fisheries assessment of

pesticides. –L: GosNIORH, 1973.
3. Safety Passport substance (material)/ BARAKOR 100. – M: Company «Halliburton International Inc.», 2014 (in Russian).
4. Prozorovsky V.B. Using the least squares

method for probit analysis of mortality curves. – M.: – Pharmacology and toxicology, 1962 (in Russian).
5. Guidance on the determination method of toxicity biotesting water, bottom sediments,

pollutants and drilling muds: approved by the Russian Ministry 27.04.2001. –M.; RAFI, NIA of Natural Resources, 2002 (in Russian).

A.S. Fedotov

TOXICITY ASSESSMENT OF THE SUBSTANCE BARAKOR 100 TO HYDROBIONTS

Federal State Unitary Institution «Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography» (VNIRO), Federal Agency for Fisheries, 107140 Moscow, Russian Federation

Toxicity of the preparation BARAKOR 100 was assessed for standard test-objects: phytoplanktonic organisms *Phaeodactylum tricornutum* Bohin; zooplanktonic organisms *Artemia salina* and fishes, one-day old fishes – *Poecilia reticulata* Peters. Toxicity assessment to hydrobionts was based on indicators of mean lethal concentrations LC50 characterizing changes in survival (death) by 50% for a determined duration- 24, 48 and 96 h (LC50 -24; 48; 96 h). Based on the toxicity assessment of the preparation, it was established that the preparation BARAKOR 100 refers to very low toxic substances.

Keywords: preparation, phytoplankton, zooplankton, fish, toxicity.

Материал поступил в редакцию 24.02.2015 г.

ЮБИЛЕЙ

РЕМБОВСКИЙ ВЛАДИМИР РОМАНОВИЧ

(к 70-летию со дня рождения)

22 апреля 2015 года исполнилось 70 лет со дня рождения видного ученого в области военной и промышленной токсикологии, гигиены, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации Рембовского Владимира Романовича.

После окончания с отличием и золотой медалью Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова В.Р. Рембовский с 1972 г. по 2001 г. служил в Центральном научно-исследовательском и испытательном институте войск радиационной, химической и биологической защиты, где прошел путь от младшего научного сотрудника до заместителя начальника института по научно-исследовательской работе.

С 2002 г. по настоящее время является директором Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский



институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства.

Основные научные интересы В.Р. Рембовского в области военной токсикологии были связаны с изучением токсических свойств и экспериментальной терапией высокоактивных химических соединений. Результаты его научно-практической деятельности нашли применение в областях фундаментальной и прикладной медицины. Под его руководством разрабатывались основы физиологического нормирования работо- и боеспособности военных специалистов, программы оценки эффективности медицинских средств защиты от ядерного и химического оружия.

В.Р. Рембовский создал и руководил Диссертационным Советом, в течение 10 лет подготовив более 20 докторов и 100 кандидатов наук. Итогом

научной деятельности в этот период явились защита кандидатской (1979 г.) и докторской (1990 г.) диссертаций, утверждение в ученном звании профессора (1995 г.). В 1991 г. Владимиру Романовичу присвоено звание «Лауреат Государственной премии СССР в области науки и техники»; в 1998 г. – звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

В настоящее время В.Р. Рембовский является ведущим организатором и специалистом ФМБА России по разработке и внедрению в практику новых научных направлений в области обеспечения химической безопасности. Результаты его деятельности характеризуются широтой и глубиной научных изысканий; используются специалистами промышленной токсикологии, гигиены, экологии и профпатологии, в практике медико-биологического сопровождения работ на опасных химических объектах ракетно-космической деятельности, по уничтожению химического оружия, а также списанной с вооружения устаревшей ракетной техники и др.

В. Р. Рембовский руководит и принимает участие в проведении комплексных токсикологических, медико-гигиенических, экологических и химико-аналитических исследований по разработке медико-гигиенических основ охраны труда и окружающей среды, сохранения здоровья людей; подготовке нормативно-правовых и информационно-методических документов по обеспечению санитарно-эпидемиологической безопасности; по изучению патогенеза, механизма действия опасных химических веществ, их гигиеническому нормированию и разработке методов химико-аналитического контроля в объектах производственной и окружающей среды, в биосредах; по математическому моделированию интоксикаций и разработке новых этиотропных препаратов и средств патогенетической терапии острых и хронических отравлений.

Под руководством В.Р. Рембовского организовано изучение патофизиологии экстремальных состояний. Внедрена методология клинико-гигиенического и экологического мониторинга с применением автоматизированных систем диагностики на опасных химических объектах, созданы регистры лиц, подвергшихся воздействию профессиональных факторов. Обоснованы критерии оценки воздействия химических веществ на организм человека, изучаются клинические проявления, течение профинтоксикаций, разрабатываются новые эффективные методы и способы диагностики, лечения, реабилитации и профилактики острых и хронических профзаболеваний, их отдаленных последствий.

Для выполнения задач по углублению научных исследований и расширению научной деятельности в течение 2007-2014 гг. в институте

сформированы новые лаборатории: аналитической токсикологии; молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии; экстремальной физиологии; химического моделирования; физиологической оценки и медицинской коррекции; экспериментальной и клинической фармакологии; спортивной гигиены.

В.Р. Рембовский – автор и соавтор более 450 научных работ, в том числе 9 монографий («Экспериментальная токсикология», «Анализ риска в системе мониторинга воздействия химического фактора», «Handbook of the Toxicology of Chemical Warfare Agents. Chapter 7: Russian VX: monitoring and toxicity» и др.), 5 изобретений, 3 патентов, 20 нормативно-правовых и инструктивно-методических документов (санитарные правила, методические указания и рекомендации).

Под руководством В.Р. Рембовского защищено 16 диссертаций, в том числе 8 докторских.

В.Р. Рембовский возглавляет работу редколлегии ряда ведомственных изданий. Активно принимает участие в организации и работе международных и российских съездов, форумов, симпозиумов, конференций по актуальным вопросам профилактической и клинической медицины.

Владимира Романовича отличают целеустремленность, преданность науке, организаторский талант, творческая интуиция, работоспособность, глубокие знания, требовательность и тактичность, внимание к коллегам.

Заслуги многолетней деятельности выдающегося отечественного ученого В.Р. Рембовского в области военной, общей, промышленной и аналитической токсикологии, общей и специальной гигиены, направленной на обеспечение обороноспособности и безопасности Родины, высоко оценены на государственном уровне. В.Р. Рембовский награжден орденом Почета, орденом «За службу в Вооруженных Силах СССР» III степени, 9 медалями, в том числе медалью ордена «За заслуги перед отечеством» II степени, памятными знаками, грамотами Минздрава РФ, ФМБА России.

Уважаемый Владимир Романович!!!

От имени руководства и сотрудников ФМБА России и организаций, выполняющих совместные исследования, а также Ваших коллег и учеников сердечно поздравляем Вас с юбилеем, желаем Вам новых успехов в научной деятельности, доброго здоровья, счастья, творческого долголетия. Федеральное медико-биологическое агентство; Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства; Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»; Всероссийская общественная организация токсикологов.

БЮЛЛЕТЕНЬ



Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 547 :614.71

ОБОСНОВАНИЕ НЕЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ГИГИЕНИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ МЕТАНА В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ (Синонимы: рудничный газ, болотный газ)

М.А. Пинигин,
Л.А. Федотова,
А.В. Цуканов

ФГБУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина Минздрава России, 119121, г. Москва, Российская Федерация

В настоящей работе представлено обоснование нецелесообразности гигиенического нормирования метана в атмосферном воздухе населенных мест. На основании проведенных исследований установлено, что минимальный опасный для здоровья, ввиду развития гипоксии, уровень концентрации метана в воздухе составляет $38496,19 \text{ мг/м}^3$; вследствие естественных процессов рассеивания, миграции и стока метана из атмосферы, препятствующих его скоплению в ее приземных слоях, достижение концентраций такого уровня вне замкнутых пространств маловероятно: фактическая концентрация метана в тропосфере определяется на уровне порядка $1,34 \text{ мг/м}^3$. Исходя из этого делается вывод о нецелесообразности гигиенического нормирования метана в атмосферном воздухе населенных мест как индивидуального загрязняющего вещества. Однако, принимая во внимание, что метан способен оказывать воздействия на тепловой баланс Земли, указывается на актуальность нормирования его как парникового газа.

Ключевые слова: метан, максимальная разовая предельно допустимая концентрация, референтная концентрация, ориентировочный безопасный уровень воздействия, гипоксия.

Метан (№CAS: 74-82-8, CH_4) широко распространен в природе и, после диоксида углерода (CO_2), является основным переносчиком углерода в природе: он встречается в осадочном чехле земной коры в виде свободных ско-

плений (залежей), в растворённом (в нефти, пластовых и поверхностных водах), рассеянном, сорбированном (породами и органическим веществом) и твёрдом (газогидратном) состояниях.

Пинигин Мигмар Александрович (Pinigin Migmar Aleksandrovich), доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, заведующий лабораторией гигиены атмосферного воздуха ФГБУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина Минздрава России, 119121, г. Москва, vozduch2002@mail.ru

Федотова Лионелла Айдыновна (Fedotova Lionella Aydinovna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФГБУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина Минздрава России, 119121, г. Москва, fedotov2003@mail.ru

Цуканов Андрей Владимирович (Tsukanov Andrey Viktorovich), научный сотрудник лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФГБУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина Минздрава России, 119121, г. Москва

Метан является основным компонентом природных горючих газов (до 99,5%), нефтяных попутных (39-91%), болотных (свыше 99%) и рудничных (34-48%) газов, присутствует в газах грязевых вулканов (свыше 95%), sporadически встречается в вулканических газах и в газах магматических и метаморфических пород, а также в микровключённых газах. В водах Мирового океана растворено порядка $14 \cdot 10^{12}$ м³ метана, в атмосфере Земли – около $6 \cdot 10^{12}$ м³, в угленосных толщах содержится 240 – 260 трлн. м³ метана в свободном и сорбированном состоянии, причем содержание сорбированного газа преобладает над свободным. При этом средняя его концентрация в тропосфере составляет порядка 1,34 мг/м³ [4, 18].

Метан применяется без очистки в качестве топлива в народном хозяйстве и в быту, в химической промышленности служит сырьем для получения водорода, ацетилен, циановодорода, хлорметана, хлорбромметана, технического углерода, метилхлорида, метилхлорида, хлороформа, тетрагидрид углерода, сажи (технического углерода), формальдегида, сероуглерода, ацетилен, синильной кислоты, водорода, аммиака, водяного газа, применяемого при синтезе углеводородов, спиртов, альдегидов, нитрометана и др.

Основными антропогенными источниками поступления метана в окружающую среду являются рисовые поля, сельскохозяйственные животные, свалки, газовые и нефтяные скважины, каменноугольные шахты, выбросы газоперерабатывающих заводов, выхлопные газы двигателей внутреннего сгорания, воздух в бункерах при сортировке угля, в трюмах паровозов; возможны его утечки с метановозов, предназначенных для транспортировки морем сжиженного природного газа и при пользовании бытовым газом; как и другие гнилостные газы, метан накапливается в канализационных колодцах, силосных ямах. Также метан выделяется из некоторых полимерных материалов при термоокислительной деструкции [2].

Метан малотоксичен: в связи с малой растворимостью в воде (0,005563, 0,003308 и 0,00170 г/100 мл соответственно при 0°С, 20°С и 100°С) и сыворотке крови метан физиологически мало активен, не подвергается биотрансформации в тканях и выделяется из организма в неизменном виде, а его токсическое действие в обычных условиях определяется главным образом вытеснением из воздуха прочих составляющих его газов, в том числе кислорода, что приводит к развитию гипоксической (внешней) гипоксии, причем острые отравления крайне редки, и возникают, как правило, при внезапных выбросах метана в угольных шахтах, при которых содержание алканов может достигать 90-100% (по объему), а содержание кислорода падает до 0-2% [3,10-12].

Поэтому в настоящем исследовании особое внимание было уделено изучению сведений о закономерностях развития гипоксии при подъеме на высоту (как наиболее близкой по механизму развития), сопоставлению их с данными о развитии гипоксии вследствие вытеснения кислорода воздуха метаном в закрытых помещениях, шахтах, а также возможности возникновения условий для развития гипоксии, обусловленной воздействием метана, в условиях атмосферного воздуха населенных мест.

Роль высотного фактора в патогенезе гипоксии, развитие которой, как и при воздействии метана, обусловлено снижением уровня кислорода в атмосферном воздухе и, соответственно, уровня насыщения гемоглобина кислородом, хорошо изучена.

А.З. Колчинская и соавторы (1979-1999) в зависимости от уровня рО₂ изменяющегося при подъеме человека в горы выделяют пять степеней тяжести гипоксической гипоксии (табл. 1). [13,14,19].

Следует отметить, что уровни содержания кислорода в атмосферном воздухе, характерные для гипоксии различных степеней тяжести

Таблица 1

Степени тяжести гипоксии и соответствующие им уровни кислорода в атмосферном воздухе уровни насыщения гемоглобина кислородом в соответствии с классификацией А.З. Колчинской

Степень тяжести гипоксии	Парциальное давление кислорода в воздухе, мм рт.ст.	Насыщение гемоглобина, %
1 (латентная гипоксия)	150-135	96-94
2 (компенсированная гипоксия)	135-100	94-90
3 (субкомпенсированная гипоксия)	95-85	88-80
4 (декомпенсированная гипоксия)	85-55	78-60
5 (терминальная гипоксия)	50 и ниже	60-50

колеблются в широком диапазоне, что обусловлено индивидуальной устойчивостью к гипоксии, а также повышением потребления кислорода при физической нагрузке и рядом других факторов.

Экспериментальные токсикологические исследования по изучению острого ингаляционного воздействия метана, проведенные в соответствии с действующими нормативно-методическими документами [10,13,16,26], с использованием неинбредных белых крыс-самцов с массой тела 150-250 г (экспериментальные группы из 6 крыс формировали методом случайных чисел с использованием массы тела в качестве ведущего признака) в камере ингаляционного воздействия с динамической подачей вещества, снабженной датчиком парциального давления кислорода, показали, что при двухчасовой экспозиции в концентрации 67000 мг/м³ (10% по объему) животные оставались активны, признаков токсического воздействия не выявлено; в концентрации 167500 мг/м³ (25% по объему) наблюдались признаки острой гипоксии (учащение дыхания, малая подвижность) без гибели подопытных животных; в концентрации 335000 мг/м³ (50% по объему) – наблюдалось нарастание признаков гипоксии, наряду с учащением дыхания наблюдали боковое положение подопытных животных и по истечении двух часов – гибель 2-х из 6-ти подопытных животных (33%); воздействие концентрации 569500 мг/м³ (85% по объему) приводило к гибели 100% подопытных животных в течение первых минут эксперимента. При этом у выживших животных опытных групп (кроме группы, подвергшейся воздействию метана в концентрации 67000 мг/м³) наблюдались достоверные изменения поведенческих реакций в сравнении с контрольными животными в тесте открытое поле непосред-

ственно после воздействия: отмечено снижение горизонтальной и вертикальной компонент двигательной активности крыс в тесте «открытое поле» и «норкового» рефлекса, снижение аппетита, что свидетельствует о некотором угнетении ЦНС. При повторных исследованиях в тесте «открытое поле» достоверных отличий в поведении животных опытных и контрольной групп, как и различий в динамике прироста массы тела не выявлено.

Выявленные эффекты указывают на развитие у подопытных животных опытных групп гипоксии различной степени тяжести. Быстрое исчезновение симптомов после перемещения животных в среду с чистым воздухом косвенно свидетельствует об экзогенном характере гипоксии, при этом концентрация метана 67000 мг/м³ является недействующей.

Экспериментально была установлена зависимость степени вытеснения кислорода и других газов из воздуха при изменении в нем содержания метана. Так, при подаче в испытательную камеру чистого воздуха, доля кислорода в нем составляла 20% (по объему); при концентрации метана 167500 мг/м³ (или 25% по объему), доля кислорода составляла уже 16%, при достижении уровня метана 335000 мг/м³ (50%) – 10%, а при концентрации метана 603000 мг/м³ (90%) содержание кислорода в газовой смеси не превышало 2% (табл. 2.) [1,3,10-12].

Исходя из выявленной зависимости изменения доли кислорода в воздухе от содержания в нем метана, нами были определены уровни концентраций метана в атмосферном воздухе от недействующих (безопасных) до уровней представляющих определенную опасность, в частности концентрации при которых возможно развитие гипоксии различных степеней тяжести и воспламенение смеси метана с воздухом (табл. 3).

Таблица 2

Процент вытеснения кислорода из воздуха при изменении в нем содержания метана (по данным научной литературы)

Содержание метана в воздухе		% вытеснения кислорода метаном, в % от его нормального содержания в воздухе*	Остаточное содержание кислорода в воздухе, % (по объему)	Литературный источник
мг/м ³	%			
167500	25	23,6189	16	[3, 10 - 12]
201000	30	28,3927	15	
335000	50	52,2618	10	[1]
603000	90	90,4523	2	[3, 10 - 12]
670000	100	100	0	

* Принято равным 20%

Как видно из таблицы 3, минимальный опасный уровень концентрации метана по признаку развития гипоксии составляет 38496,19 мг/м³. При нормальном барометрическом давлении (760 мм рт.ст. по IUPAC) такой концентрации соответствует парциальное давление кислорода 150 мм рт.ст., при котором возможно развитие гипоксии 1-ой степени тяжести (латентной гипоксия) характеризующейся отсутствием субъективных проявлений гипоксии, за исключением ощущения прилива энергии в теле, приподнятого настроения, ускорения речи и движений, развитием одышки и тахикардии при физической нагрузке [13,14,19].

Указанный уровень содержания метана в воздухе в 1,5 раза выше нижнего предела воспламенения метана в смеси с воздухом (около 25460 мг/м³) и в 12 раз ниже уровня, при котором развивается гипоксия наивысшей – 5-ой степени тяжести (459498,73 мг/м³), характеризующаяся резким нарушением сердечной деятельности,

агональным дыханием и замедлением дыхания вплоть до остановки с наступлением клинической, а если не оказать своевременную помощь, то и необратимой биологической смерти [13,14,19].

Между тем, метан почти в 2 раза легче воздуха, что препятствует его скоплению в приземных слоях атмосферы и, вследствие естественных процессов рассеивания, миграции и стока (химического стока, вклад которого в общий сток метана составляет порядка 90% и процессов поглощения почвенными бактериями и ухода в стратосферу – менее 10%) метана из атмосферы, достижение опасных уровней его концентраций в условиях атмосферного воздуха маловероятно (фактическая концентрация метана в тропосфере определяется на уровне порядка 1,34 мг/м³) [2,4,18].

Таким образом, если в замкнутых пространствах шахт, помещений возможно развитие гипоксии, обусловленной вытеснением воздуха метаном, то, в силу определенных физико-хими-

Таблица 3

Зависимость парциального давления кислорода и насыщенности гемоглобина от концентрации метана в атмосферном воздухе при нормальном барометрическом давлении (760 мм рт.ст.) с указанием безопасных и опасных уровней концентраций

Концентрация метана, мг/м ³	Содержание кислорода в воздухе в объемных %	Парциальное давление кислорода, мм.рт.ст.	Гигиеническая значимость. Безопасные и опасные уровни метана и кислорода в воздухе	Литературный источник
1,34	20,9476	159,144	Безопасный уровень («нормальное» соотношение газов воздуха в тропосфере)	[18]
7000			Безопасный уровень (ПДК в воздухе рабочей зоны)	[7]
14078,04	20,5	155,8	Безопасный уровень (уровень содержания кислорода в воздухе жилых и общественных зданий)	
25460			Нижний предел воспламенения в смеси с воздухом	[5]
38496,19	19,73	150	Опасный уровень (гипоксия 1-ой степени тяжести)	[13,14,19]
100500			Верхний концентрационный предел воспламенения в смеси с воздухом	[5]
101646,37	17,76	135	Опасный уровень (гипоксия 2-ой степени тяжести)	[13,14,19]
270047,52	12,5	95	Опасный уровень (гипоксия 3-ей степени тяжести)	
312147,64	11,18	85	Опасный уровень (гипоксия 4-ой степени тяжести)	
459498,73	6,58	50	Опасный уровень (гипоксия 5-ой степени тяжести)	
606007,6	2	15,2	Опасный уровень («смерть за 6 вдохов»)	[3,10-12]

Таблица 4

Гигиенические нормативы некоторых предельных углеводородов в атмосферном воздухе населенных мест в РФ

Наименование углеводорода	ПДК _{м.р.} /ПДК _{с.с} в атмосферном воздухе, мг/м ³	ОБУВ в атмосферном воздухе, мг/м ³	ПДК _{м.р.} /ПДК _{с.с} в воздухе рабочей зоны, мг/м ³
Метан	-	50	7000/-
Этан	-	50	900/300
Пропан	-	-	
Бутан	200/-		
Пентан	100/25		
Гексан	60/-		
Гептан	-	-	
Октан	-	-	
Нонан	-	-	
Декан	-	-	

ческих свойств, опасные уровни метана в атмосферном воздухе при нормальном барометрическом давлении практически недостижимы.

Исходя из этого, гигиеническое нормирование метана в атмосферном воздухе представляется нецелесообразным, что подтверждается международной практикой: отсутствием индивидуального гигиенического норматива в атмосферном воздухе и нормированием в воздухе рабочей зоны в смеси с углеводородами алифатическими предельными.

Так, в США отсутствует индивидуальный гигиенический норматив метана в атмосферном воздухе, а в воздухе рабочей зоны он нормируется в смеси предельных углеводородов группы C₁-C₄, причем величина указанного норматива (суммарно – 1000 ppm или 670 мг/м³ [17]) принимается, по видимому, исходя из токсических свойств более опасных соединений этой смеси. Обособленность токсических свойств метана в ряду предельных углеводородов подтверждается и отечественной практикой гигиенического нормирования химических веществ в воздухе рабочих зон: максимально разовая и среднесменная ПДК предельных углеводородов группы C₂- C₁₀ в нашей стране установлены на уровне 900 и 300 мг/м³ соответственно, без учета метана для которого ПДК максимально разовая в воздухе рабочей зоны утверждена равной 7000 мг/м³ (табл. 4).

Действующий гигиенический норматив метана (ОБУВ= 50 мг/м³) имеет временный характер (срок действия ОБУВ – 3 года) и, по-видимому, установлен на основании ВМУ [6] с учетом его ПДК в воздухе рабочей зоны (ПДК_{м.р.} = 7000 мг/м³). При этом разница между нормиру-

емыми уровнями концентраций в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе для метана составляет 140 раз, что примерно соответствует той разнице, что обычно наблюдается между ПДК в воздухе рабочих зон и атмосферном воздухе (100 раз).

Мотивы установления норматива 20 минутного периода усреднения на уровне 50 мг/м³ не ясны (в архиве секции «Гигиена атмосферного воздуха» отсутствуют материалы по обоснованию ОБУВ метана), как и мотивы установления значения референтной концентрации для хронического ингаляционного действия на том же уровне – 50 мг/м³ [7,8,9, 16]. Кроме того, согласно п.8.1. ОНД-86 такое отношение между 20-ти минутными и годовыми нормативами не соответствует реалиям, что в целом рождает безусловное сомнение в обоснованности указанных нормативных значений метана в атмосферном воздухе.

Заключение. Таким образом, по результатам исследования, нормирование метана в атмосферном воздухе населенных мест как индивидуального загрязняющего вещества с гигиенической точки зрения нецелесообразно, а ныне существующая величина норматива (ОБУВ) метана в атмосфере должна быть исключена из ГН 2.1.6.2309-07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест» [9].

Тем не менее, принимая во внимание, что метан способен оказывать воздействия на тепловой баланс Земли, по-прежнему актуально нормирование его как парникового газа, что, однако, не является предметом гигиенического нормирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бабанов Г. П.* и др. // Гигиена труда. – 1981. – №12. – С.48-50.
2. *Бажин Н. М.* Метан в атмосфере. // Соросовский образовательный журнал. 2000, №3. С. 52 – 57.
3. *Байун А. Н.* В кн.: Горноспасательная медицина. Донецк. – 1966, – С. 136-141.
4. *Войтов Г. И., Орлова Т. Г.* Дегазация земли и геотектоника. М., – 1985. – С. 49-52.
5. Вредные вещества в промышленности. / Справочник под общей редакцией засл. деят. науки, проф. Н.В.Лазарева. Ленинград. Химия. т.1. – 1976. – С.17-23.
6. Временные методические указания по обоснованию ПДК загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. № 4681-88. М., – 1989. – 110 с.
7. ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны: Гигиенические нормативы 2.2.5.1313-03. М., – 2003.
8. ГН 2.1.6.1338-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест»: Гигиенические нормативы. ГН 2.1.6.1338-03. – М: Росийский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2003. – 86с.
9. ГН 2.1.6.2309-07. Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. – М., – 2008. – 134 с.
10. *Дейнега В. Г.* Врачебное дело. // Гигиена труда. – 1975. – №11. – С. 121-124.
11. *Дейнега В. Г.* Врачебное дело. // Гигиена труда. – 1969. – № 3. – С. 57- 58.
12. *Дейнега В. Г.* // Фармакология и токсикология. Т. 31. – 1968. -№4. – С. 494-497.
13. *Колчинская А. Э.* О классификации гипоксических состояний //Патол. физиол. и эксперим. терапия, 1981, вып. 4, с. 3-10.
14. *Колчинская А. Э.* Использование ступенчатой адаптации к гипоксии в медицине /Вестник Российской Академии Наук, 1997, № 5, с. 12-19.
15. МР № 2166-80. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. Киев. – 1980г. – 47 с.
16. Руководство по оценке риска здоровья населения при воздействии химических веществ загрязняющих окружающую среду. Р 2.1.10.1920-04, утв.05.03.04. -М: Федеральный Центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. 2004. -143 с.
17. American Conference of Governmental Industrial Hygienists TLVs and BEIs. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices. Cincinnati, OH, – 2008, – 38 p.
18. Gribbin, John Science. A History (1543-2001). – L.: Penguin Books, 2003. – 648 с. – ISBN 978-0-140-29741-6
19. *Kolchinskaya A.Z.* La hypoxie de charge: un des mecanismes physiologiques les plus importants dans l'adaptation de l'organisme a des charges d'entrainement et de competition elevee //L'adaptation des spor-tifs aux charges d'entrainement et de competition. Ed.: Platonov V.N. Paris, 1990.

REFERENCES:

1. *Babanov G.P.* et al. Occupational Hygiene. 1981; 12: 48-50. (in Russian).
2. *Bazhin N.M.* Methane in the atmosphere. Soros Educational Journal. 2000; 3: 52 – 57. (in Russian).
3. *Baiyun A.N.* Mountain Rescue medicine. Donetsk. 1966. 136-141. (in Russian).
4. *Voitov G.I. Orlova T.G.* Degassing of the Earth and geotectonic. M. 1985. 49-52. (in Russian).
5. *Lazarev N.V.* The harmful substances in industry. L.: Goskhimizdat. 1963; ch.1: 17-23. (in Russian).
6. Temporary guidance on justification of maximum permissible concentration (MPC) of pollutants in the air of residential areas, № 4681-88, MZ SSSR, M.; – 1989. (in Russian).
7. GN 2.2.5.1313-03 "Maximum permissible concentration (MPC) of pollutants in the air of working zone." – MZ RF. – M.; 2003 (in Russian).
8. GN 2.1.6.1338-03 "Maximum permissible concentration (MPC) of pollutants in the air of residential areas." – MZ RF. – M.; 2003 (in Russian)..
9. GN 2.1.6.2309-07. Exposure Limits (OEL) of pollutants in the ambient air of residential areas. – M, – 2008. – 134 p. (in Russian).
10. *Deynaga V.G.* Medical business. Gijena truda. 1975. 11: 121-124. (in Russian).
11. *Deynaga V.G.* Medical business. Gijena truda. 1969. 3: 57- 58. (in Russian).
12. *Deynaga V.G.* Pharmacology and toxicology. T. 31. 1968. 4: 494-497. (in Russian).
13. *Kolchinskaya A.Z.* On the classification of pathological hypoxic conditions. Fiziologiya i experimentalnaya terapiya. 1981. 4: 3-10. (in Russian).
14. *Kolchinskaya A.Z.* Using the stepped of adaptation to hypoxia in medicine. Bulletin of the Russian Academy of Sciences. 1997. 5: 12-19. (in Russian).
15. MR № 2166-80. Guidelines on the use of behavioral responses of animals in toxicological studies for hygienic standardization. Kiev. 1980. (in Russian).
16. Human health risk assessment from environmental chemicals. P 2.1.10.1920-04. Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitel'ey i blagopoluchiya cheloveka. M.; 2004.
17. American Conference of Governmental Industrial Hygienists TLVs and BEIs. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices. Cincinnati, OH, – 2008, – 38 p.
18. Gribbin, John Science. A History (1543-2001). – L.: Penguin Books, 2003. – 648 с. – ISBN 978-0-140-29741-6.
19. *Kolchinskaya A.Z.* La hypoxie de charge: un des mecanismes physiologiques les plus importants dans l'adaptation de l'organisme a des charges d'entrainement et de competition elevee //L'adaptation des spor-tifs aux charges d'entrainement et de competition. Ed.: Platonov V.N. Paris, 1990.

M.A. Pinigin, L.A. Fedotova, A.V. Tsukanov

JUSTIFICATION OF INEXPEDIENCY OF METHANE HYGIENIC REGULATION IN ATMOSPHERIC AIR

Federal State Budgetary Institution «A.N. Sysin «Research institute of human ecology and environmental health» Ministry of Health, 119992, Moscow, Russian Federation

The present work presents the justification of inexpediency of hygienic regulation of methane in the air of residential settings. Based on the studies conducted, it was found out that a minimum health hazard having in mind the development of hypoxia, appears at the concentration of methane of 38496.19 mg/m³ in the air. Due to methane natural dispersions, migration and outflow from the atmospheric air that prevents its accumulation in the surface layers, it is unlikely that methane accumulations attain such a level of concentration outside closed spaces: the actual concentration of methane in the troposphere is determined at a level of about 1.34 mg/m³. On this basis, it is concluded that hygienic regulation of methane in the air of residential areas as an individual pollutant is inappropriate; however, taking into account that methane is able to exert influence on the Earth heat balance, its regulation as greenhouse gas is relevant.

Keywords: *methane, maximum allowable concentration (MAC), the reference concentration, tentative safe exposure level (TSEL), hypoxia.*

Материал поступил в редакцию 24.12.2014 г.

УДК 579.66: 614.7

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕБЕНИНА, АКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ ЛИНЕКСА

Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрябина¹, Л.И. Мялина¹,
Е.В. Буданова², Л.П. Сазонова¹, В.В. Колесникова¹,
Г.Г. Чуб¹

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, Российская Федерация

²ГБОУ ВПО ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ, 119991 г. Москва, Российская Федерация

Была проведена оценка безопасности Лебенина. Лебенин, содержит сообщество устойчивых к антибиотикам жизнеспособных лиофилизированных молочнокислых бактерий следующих видов: *Lactobacillus gasseri* (s.v. *L. acidophilus*), *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*. Анализ материалов по обоснованию ПДК бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны и атмосфере населенных мест свидетельствуют о том, что для некоторых аналогичных препаратов и близких микроорганизмов, входящих в их состав, уже установлены гигиенические нормативы, которые позволяют их отнести к 4 классу опасности.

Ключевые слова: микроорганизм, опасность, токсичность.

Объектом токсикологического изучения явился стандартный образец активной субстанции нормализующего микрофлору кишечника лекарственного препарата Линекс – Лебенин, содержащий сообщество устойчивых к антибиотикам жизнеспособных лиофилизированных молочнокислых бактерий следующих видов: *Lactobacillus gasseri* (s.v. *L. acidophilus*), *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*. В 1г активной субстанции Лебенин содержится *Lactobacillus gasseri* – 1.5×10^8 , *Bifidobacterium infantis* – 1.7×10^8 , *Enterococcus faecium* – 1.2×10^8 кл. Общее количество микроорганизмов составляет 4.9×10^8 клеток/г.

В рамках проведенных токсикологических исследований по оценке безопасности активной субстанции Линекса – Лебенина были исследованы возможные патогенные свойства микроорганизмов, входящих в состав препарата, а также влияние субстанции на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммуноток-

сические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы.

Для характеристики возможных патогенных свойств *Lactobacillus gasseri*, *Bifidobacterium infantis* и *Enterococcus faecium* в экспериментальных условиях на мышах были определены следующие параметры: средневирulentная доза, «пороговая» доза (Lim_{bact}), токсигенность и способность к диссеминации штамма в кровь и внутренние органы в течение 30 дней.

Показано, что при однократном внутрибрюшинном введении высоких доз микроорганизмы не проявляют вирулентных свойств ($DV_{50} > 10^{11}$ кл/жив.).

При однократном внутрибрюшинном введении «пороговая» доза *L. gasseri*, *B. infantis* в экспериментах составила 10^9 микробных клеток/жив., а *E. faecium* – 10^{10} микробных клеток/жив., что свидетельствует о низкой способности микроорганизмов к инвазивности из брюшной полости в кровяное русло и не превышает допустимых значений, представленных в нормативных

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natalia Ivanovna), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, ni_sheina@mail.ru

Скрябина Эмилия Григорьевна (Skrjabina Jemilija Grigor'evna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела медицинской химии и токсикологии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, let@mail.ru

Мялина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vjacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ, 119991 г. Москва, e.v.budanova@mail.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Чуб Галина Георгиевна (Chub Galina Georgievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

документах: в соответствии с методическими рекомендациями (1992г.) «пороговая» доза для непатогенных штаммов должна составлять более 10^7 кл/жив.

Токсигенные свойства микроорганизмов не были выявлены при введении чистого центрифугата и его 2-х кратных разведений, т.е. токсигенность их отсутствует (в соответствии с нормативными документами токсигенность для непатогенных микроорганизмов должна быть равна 0).

Результаты исследования способности к диссеминации изучаемых микроорганизмов показали, что они обладают способностью к кратковременному персистированию в крови и внутренних органах теплокровных животных в течение 2 дней при однократном внутрибрюшинном введении в дозах 10^{11-9} кл/жив., но не способны к диссеминации в кровь и внутренние органы.

Для оценки безопасности Лебенина и выявления лимитирующего критерия его вредного действия препарат в виде суспензии микроорганизмов в физрастворе вводили интраназально крысам и мышам в течение 1 месяца в максимально возможных дозах, которые соответствовали расчетно-поглощенным концентрациям 4×10^6 и 4×10^7 кл/м³ в воздухе при ингаляционном воздействии.

Обследование животных в хроническом эксперименте показало, что воздействие микроорганизма в концентрациях 4×10^6 и 4×10^7 кл/м³ не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось по динамике массы

тела в процессе эксперимента, а также по величине коэффициентов массы внутренних органов.

В результате изучения иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что коэффициенты масс иммунокомпетентных органов экспериментальных животных не отличались по сравнению с таковыми у животных контрольной группы.

В лейкограмме периферической крови подопытных животных содержание основных клеточных элементов белой крови (лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов) не отличалось от контрольных значений. Не отмечено изменения баланса иммунокомпетентных клеток, содержание Т- и В-лимфоцитов в крови подопытных животных соответствовало таковому у контрольных животных.

При оценке сенсибилизирующей активности препарата в эксперименте на мышах и крысах не выявлено формирование клеточной реакции немедленного (ГНТ) и замедленного (ГЗТ) типа. Изучаемый препарат не вызывал иммунного ответа на указанных уровнях воздействия. Не обнаружено образования специфических гуморальных антител (агглютининов) в сыворотке подопытных животных обеих групп.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне хронического воздействия Лебенина наблюдалось заметное позитивное изменение в составе микрофлоры кишечника крыс, наиболее выраженное при воздействии препарата в большей концентрации. Лактобациллы и бифидобактерии высевались в довольно больших концентрациях у по-

Таблица

**Гигиенические нормативы ряда бакпрепаратов и микроорганизмов
(ГН 2.1.6.2177-07, ГН 2.2.6.2178-07)**

Название препарата или микроорганизма	Назначение	ПДК _{р.з.}	ПДК _{а.в.}
1. Энтерацид (Lactobacillus-57%, Bifidobacterium-21.5%, Streptococcus faecium (s.v. Enterococcus faecium)-21.5%)	Препарат для лечения дисбактериоза	50 000	-
2. Пропиацид (Lactobacillus-20%, Prohionibacterium-80%)	Препарат для лечения дисбактериоза	50 000	-
3. Байкал (Lactobacillus casei-30%, Streptococcus lactis-30%, Phodopseudomonas palustris-30%, Saccharomyces cerevisiae-10%)	Биодобавка к кормам	20 000	2 000
4. Lactobacillus casei шт.21	Компонент препарата Байкал	20 000	2000
5. Lactobacillus acidophilus шт.1-К	Компонент препаратов Энтерацита и Пропиацида	50 000	-
6. Lactobacillus plantarum шт.435	Компонент препарата для производства мясных продуктов	50 000	-

допытных животных, превышающие таковые в контрольной группе. Слабоферментирующие кишечные палочки не высевались вовсе в опытных группах по сравнению с контрольной группой животных

В восстановительном периоде положительное воздействие препарата на микроценоз не было выявлено, и состояние микрофлоры кишечника подопытных крыс по качественным и количественным показателям не отличалось от таковых контрольных животных.

Микроорганизмы, входящие в состав Лебенина, при хроническом воздействии препарата в изучаемых концентрациях не обладают способностью к диссеминации в кровь и внутренние органы (легкие, печень, почки, селезенка) экспериментальных животных ни через 1 месяц введения микроорганизма, ни через 2 недели восстановительного периода.

На основании полученных данных можно утверждать, что в состав субстанции Лебенин входят микроорганизмы, которые не обладают патогенными свойствами. Препарат в концентрациях 4×10^6 и 4×10^7 кл/м³ не обладает сенсibiliзирующими и иммуномодулирующими свойствами, оказывает некоторое положительное

влияние на микробоценоз кишечника экспериментальных животных и является практически безопасным.

Анализ материалов по обоснованию ПДК бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны и атмосфере населенных мест свидетельствуют о том, что для некоторых аналогичных препаратов и близких микроорганизмов, входящих в их состав, уже установлены гигиенические нормативы (табл.). Как следует из таблицы препарат Энтераид близок по своему составу к препарату Лебенин, т.к. согласно современной таксономии бактерий *L.gasseri* входит в группу *L acidophilus*, а *Streptococcus faecium* переименован в *Enterococcus faecium* и относится к фекальным энтерококкам. Препарат Энтераид относится к 4 классу опасности, норматив установлен на уровне максимальной величины ПДК для производственных штаммов в воздухе рабочей зоны. Препараты Пропаицид и Байкал содержат микроорганизмы рода *Lactobacillus* и также относятся к 4 классу опасности. Производственные штаммы рода *Lactobacillus* нормированы на уровне максимальных величин ПДК_{р.з.} (4 класс опасности производственных микроорганизмов).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. Мет. реком., РГМУ, М., 1992, 22 с.

REFERENCES:

1. Criteria of assessment the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. Methodical. recommendations, Medical University, Moscow, 1992, 22 p. (in Russian)

2. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. N5789/1-91. - М., 1991. - 22 с.

3. Определитель бактерий Берджи. Под

ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, Дж. Снита и др. -Девятое изд. -М., «Мир», 1997. - 2т.

4. Предельно допустимые концентрации микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в атмосферном воздухе

населенных мест и в воздухе рабочей зоны. ГН 2.1.6.2177-07, ГН 2.2.6.2178-07 утверждены постановлением Главного государственного врача Российской Федерации от 06.03.2007, № 9, 10).

3. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. J. G. Holt, N. R. Krieg, P.H.A. Sneath et al. -M., "Mir". -1997. - 2v. (in Russian).

4. Limit permitted concentration of microorganisms-producer, bacterial

preparations and their components in the air of settlements and in the working area. HN 2.1.6.2177-07, HN 2.2.6.2178-07. 06.03.2007. № №9, 10 (in Russian).

N.I. Sheina¹, J.G. Skryabina¹, L.I. Myalina¹, E.V. Budanova², L.P. Sazonova¹, V.V. Kolesnikova¹, G.G. Chub¹

SAFETY TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF LEBENIN, ACTIVE SUBSTANCE OF LINEX

¹State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University», 117997, Moscow, RF Ministry of Healthcare, Russian Federation

²State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «I.M. Sechenov First Moscow State Medical University», RF Ministry of Healthcare, 119991 Moscow, Russian Federation

Safety assessment of the preparation Lebenin was carried out. Lebenin contains a community of resistant to antibiotic drugs, viable lyophilized lactate bacteria of the following types: *Lactobacillus gasseri* (s.v. *L. acidophilus*), *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*. The analysis of materials related to the substantiation of MACs of bacterial preparations and their ingredients in workplace and atmosphere in residential settings witnesses that there are already established hygiene norms for similar preparations and likely microorganisms in their compositions and therefore the above said microorganism preparations can be referred to hazard class 4.

Keywords: microorganism, hazard, toxicity.

Материал поступил в редакцию 12 ноября 2014 г.

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ



■ *Легеца В. И., Ушаков И. Б., Гребенюк А. Н., Попов В.И.*

Радиобиология, радиационная физиология и медицина: словарь-справочник/2-е изд., испр. и доп. – Воронеж : Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2014. – 152 с.

В словаре-справочнике представлены авторские определения терминов и понятий, которые наиболее широко используются в радиобиологии, радиационной медицине и радиационной безопасности. Словарь поможет получить представление об основных понятиях радиационной биофизики и биохимии, молекулярной и клеточной радиобиологии, о механизмах действия ионизирующих излучений на критические ткани и органы, о биологических эффектах различных доз радиации на всех уровнях организации биосистем (от действия на молекулы до эффектов в отношении целостного организма). Значительное внимание уделено описанию клинических форм радиационных поражений, средств их медикаментозной профилактики и лечения, а также терминов, используемых в обеспечении радиационной безопасности.



■ *Вершинина С. Ф.*

Золотое наследие. Николай Васильевич Лазарев.- СПб.: Вектор, 2014.-224 с. ISBN 978-5-9684-2341-2

В книге освещен период работы в Ленинградском научно-исследовательском институте онкологии (1959 – 1970) выдающегося отечественного ученого, заслуженного деятеля науки РСФСР, профессора Николая Васильевича Лазарева и создание им онкофармакологической школы, влившейся в огромную Лазаревскую школу.



■ *Рембовский В.Р., Могиленкова Л. А., Олейникова Е.В.*

Анализ риска в системе мониторинга воздействия химического фактора. СПб.:ЭЛБИ-СПб, 2014.-304 с.: ил.

В монографии представлены сведения по разработке и внедрению в практику методологии единого социально-медицинского мониторинга с применением риск-анализа для эффективности научного обеспечения медико-биологического сопровождения химически опасных предприятий, обслуживаемых ФМБА России. Дана оценка профессионального риска при работах с некоторыми отравляющими веществами (ФОВ), нефтепродуктами и другими вредными и опасными веществами. Оценен риск здоровью населения, проживающего в зоне защитных мероприятий объекта по УХО п. Марадыковский, в г. Тихвин Ленинградской области.