

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



Научно-практический журнал

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

№5 (134), 2015

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Е.А. Лужников, С.А. Кабанова, Ю.С. Гольдфарб, П.М. Богопольский, Ю.Н. Остапенко, В.А. Маткевич, М.В. Белова К ПЕРИОДИЗАЦИИ ИСТОРИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ В РОССИИ.....	2
В.Н. Ракитский, Ю.А. Ревазова, Н.А. Илюшина СТРАТЕГИЯ И ТАКТИКА ОЦЕНКИ МУТАГЕННОСТИ ПЕСТИЦИДОВ.....	10
Ю.В. Слустовская, О.Ю. Стрелова ВОЛОСЫ КАК ОБЪЕКТ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА.....	13
О.Н. Басалай, Е.Ч. Михальчук, С.М. Зиматкин, М.И. Бушма, О.А. Борисенко НЕФРОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИИ ТАУРИНА С ЦИНКА ДИАСПАРТАТОМ ПРИ ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИИ У КРЫС.....	21
А.И. Конопля, А.Л. Локтионов, В.В. Дудка, С.А. Долгарева, А.В. Сорокин, О.Н. Бушмина ХРОНИЧЕСКАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ ЭТАНОЛОМ: МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ.....	25
Е.К. Власенко, С.И. Сычик, В.А. Стельмах, В.А. Грынчак ОСОБЕННОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГЕКСИЛОВОГО ЭФИРА 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ ОДНО- И МНОГОКРАТНОГО ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ.....	31
Б.А. Кацнельсон, А.Н. Вараксин, В.Г. Панов, Л.И. Привалова, И.А. Минигалиева, Е.П. Киреева ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ КАК ОСНОВА АНАЛИЗА МНОГОФАКТОРНЫХ ХИМИЧЕСКИХ РИСКОВ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ.....	37
А.С. Олькова, Д.В. Будина, А.С. Ярмоленко ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ПОЛИВИНИЛХЛОРИДНЫХ ПЛАСТИКАТОВ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ.....	46
□ Экологическая токсикология	
В.А. Гремячих, И.И. Томила ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ИЗОФОРМ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА ПЛАНКТОННЫХ РАКООБРАЗНЫХ CERIODAPHNIA AFFINIS LILLJEBORG.....	52

БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

□ Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ.....	57
Н.И. Шеина, Э.Г. Скрябина, Л.И. Мясина, Е.В. Буданова, Л.П. Сазонова, В.В. Колесникова, Г.Г. Чуб. МИКРООРГАНИЗМ YARROWIA LIPOLYTICA 2КР ВКПМ Y-4043.....	57
□ Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам.....	60

E.A. Luzhnikov, S.A. Kabanova, Yu.S. Goldfarb, P.M. Bogopolskiy, Yu.N. Ostapenko, V.A. Matkevich, M.V. Belova ABOUT PERIODIZATION OF CLINICAL TOXICOLOGY HISTORY IN RUSSIA.....	2
V.N. Rakitskiy, Yu.A. Revazova, N.A. Ilyushina STRATEGY AND TACTICS OF THE PESTICIDE MUTAGENECITY ASSESSMENT.....	10
Ju.V. Slustovskaia, O. Ju. Strelova HAIR AS OBJECT OF CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL ANALYSIS.....	13
O.N. Basalai, E.Ch. Mikhailchuk, S.M. Zimatkin, M. I. Bushma, O. A. Borisenok NEPHROPROTECTIVE ACTION OF COMBINATION OF TAURINE WITH ZINC DIASPARTATE IN RATS WITH GENTAMICIN NEPHROPATHY.....	21
A.I. Konoplya, A.L. Loktionov, V.V. Dudka, S.A. Dolgareva, A.V. Sorokin, O.N. Bushmina CHRONIC INTOXICATION WITH ETHANOL: METABOLIC CHANGES, CORRECTION OF DISTURBANCES.....	25
E.K. Vlasenko, S.I. Sychik, V.A. Stelmakh, V.A. Grynchak FEATURES OF TOXIC EFFECT OF 5-AMINOLEVULINIC ACID HEXYL ESTER AT SINGLE AND MULTIPLE INTRAGASTRIC ADMINISTRATIONS.....	31
B.A. Katsnelson, A.N. Varaksin, V.G. Panov, L.I. Privalova, I.A. Minigalieva, E.P. Kireyeva EXPERIMENTAL MODELING AND MATHEMATICAL DESCRIPTION OF THE CHRONIC COMBINED TOXICITY AS A BASIS OF MULTI-FACTOR CHEMICAL HEALTH RISKS ANALYSIS.....	37
A.S. Olkova, D.V. Budina, A.S. Yarmolenko TOXICITY ASSEMENT OF POLYVINYLCHLORIDE PLASTIKATES USING BIO TESTING METHODS.....	46
□ Ecotoxicology	
V.A. Gremyachikh, I.I. Tomilina THE STUDY OF BIOLOGICAL EFFECTS OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES ISOFORMS ON PLANKTONIC CRUSTACEANS CERIODAPHNIA AFFINIS LILLJEBORG.....	52

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

□ News on toxicity and hazard of chemical and biological substances.....	57
N.I. Sheina, J.G. Skryabina, L.I. Myalina, E.V. Budanova, L.P. Sazonova, V.V. Kolesnikova, G.G. Chub MICROORGANISM YARROWIA LIPOLYTICA 2 KР ВКПМ Y-4043.....	57
□ New publications on toxicology and related disciplines.....	60

УДК 9.61.616.615.9:099-082

К ПЕРИОДИЗАЦИИ ИСТОРИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ В РОССИИ

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

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

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

С помощью научно обоснованных критериев в развитии клинической токсикологии в России выделено 4 периода: 1-й (2-я половина XIX века) – *зарождения*, 2-й (1-я половина XX века) – *становления*, 3-й (50–70-е годы XX века) – *развития* (формирования как самостоятельного научно-практического направления) и 4-й (1980 г. – до настоящего времени) – *технологический* (современный). Особенности клинической токсикологии как самостоятельного научного и практического направления клинической медицины являются: зависимость ее развития от научного уровня базовых областей медицины; тесная связь с научно-техническими достижениями, позволившими разработать многокомпонентные технологии для достоверной диагностики и управляемого ведения детоксикации организма, и необходимость создания специализированной токсикологической службы, функционирующей на основании соответствующей нормативно-правовой базы, с целью внедрения достижений клинической токсикологии в практику. Отмечено, что сочетание субъективного (выбор методов лечения) и объективного (наличие материальных и технических возможностей) факторов при необходимой организации обеспечило поступательное развитие клинической токсикологии.

Ключевые слова: история медицины, клиническая токсикология, периоды развития.

Введение. Есть основание считать, что периодизация истории сравнительно недавно выделившихся специализированных медицинских дисциплин позволяет точнее познать особенности их зарождения, становления и развития. В доступной литературе

исследований, посвященных периодизации истории клинической токсикологии в России, нам не встретилось. Наиболее приемлемой представлялась классификация Е.А. Лужникова [1], согласно которой в истории клинической токсикологии в XX веке выде-

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», rtiac@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

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», goldfarb@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», bogopolskiy_med@mail.ru

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

Белова Мария Владимировна (Belova Mariya Vladimirovna), кандидат фармацевтических наук, старший 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», ассистент кафедры клинической токсикологии Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования», manibel@gmail.com

лялись два этапа. Первый этап – оказания медицинской помощи при острых отравлениях (ОО) врачами общей практики, в основном по рекомендациям судебных медиков, методами симптоматического лечения, традиционными антидотами и «галеновыми препаратами». Второй этап – оказания уже специализированной помощи при ОО – начался с 60-х годов XX века, когда выявилось очевидное несоответствие между быстрым ростом числа ОО новыми лекарственными и бытовыми химическими средствами и неэффективностью существующих методов лечения. Однако мы обратили внимание на ряд фактов, свидетельствующих о том, что клиническая токсикология в России зародилась гораздо раньше. Это побудило нас к дополнительному исследованию по названной теме.

Цель: выявление периодов истории и характерных особенностей развития клинической токсикологии в России.

Материал и методы исследования. Для выполнения исследования использованы разработанные для решения подобных задач наиболее существенные научные критерии, позволяющие выявить отличия выделенных периодов [2]: 1) уровень сложности научных и практических задач, которые ставили перед собой ученые – экспериментаторы и клиницисты; 2) эволюция научных идей и практических решений, связанная с превалирующими в данный период времени фундаментальными представлениями о функциях человеческого организма; 3) разработка и использование новых диагностических и лечебных технологий, способствующих получению важных результатов; 4) результативность проводимых научных экспериментальных и клинических исследований.

Результаты и обсуждение. В соответствии с избранными научными критериями выделены 4 периода истории развития клинической токсикологии в России.

Первый период – накопления и обобщения научных знаний о ядах и отравлениях (2-я половина XIX века). Задачи этого периода были связаны с формированием научных подходов к решению наиболее важных вопросов патофизиологии, диагностики и лечения ОО на основе идей, касающихся разработки основ экспериментальной токсикологии и методов анализа действия ядов. Развитие клинической токсикологии вначале происходило в рамках судебной медицины – судебной токсикологии и фармакологии.

В ходе исследований в указанных направлениях были получены ценные сведения о клинике и лечении ОО и предприняты попытки их систематизации. Действие ядов демонстрировалось в опытах на животных. Были также разработаны первые антидоты, при их приеме внутрь приводящие к нейтрализации ядов за счет их связывания или окисления, а также предложены качественные (цветовые) химические анализы ядов в трупном материале. В этом периоде токсикология встала на научную основу благодаря фундаментальным исследованиям И.М. Сеченова и И.П. Павлова [3, 4].

Итогом данного периода развития токсикологии, воспринимавшейся тогда как наука о ядах и противоядиях, явилось обобщение полученных результатов в первых руководствах по судебно-медицинской химии и токсикологии [5–8].

Второй период – доказательного клинического и экспериментального изучения ОО на основе новых научных теорий (1-я половина XX века). В начале XX века на развитие теоретической, профилактической и клинической токсикологии большое влияние оказал стремительный прогресс военной токсикологии и военной химии, инициированный массированным применением боевых отравляющих веществ войсками, участвующими в боевых действиях во время Первой мировой войны, что сопровождалось многочисленными жертвами. В это время во многих странах начался также рост химической промышленности. Деятельность специалистов в области военной и промышленной токсикологии [9–11] много дала и токсикологии клинической. Притом большое влияние на ее развитие оказали исследования ведущих отечественных фармакологов и токсикологов, особенно Петербургской школы, возглавляемой А.Н. Лихачевым [12].

Научные и практические задачи во втором периоде были связаны с изучением механизмов токсичности химических веществ и формированием патогенетического подхода к диагностике и лечению ОО, а также разработкой методологических аспектов научных исследований, разработкой и систематизацией химических методов идентификации ядов в биологическом материале.

В этом периоде рецепторная теория П. Эрлиха сыграла большую роль в понимании природы токсических эффектов цианидов, фосфорорганических соединений, алкилирующих агентов, многих металлов и токсинов природного происхождения. Дальнейшая эволюция научных идей была связана

с теорией Н.П. Кравкова о фазовом действии ядов и созданием им моделей изолированных органов [13]. Это имело большое значение для понимания механизмов токсических эффектов ядов. Кроме того, к 20–30-м годам накопились экспериментальные данные о том, что многие вещества действуют на клетку не избирательно, а неспецифически, вызывая токсический эффект одним своим присутствием. Для таких биологических эффектов Н.В. Лазарев предложил термин «неэлектролитное действие». Оно оказалось характерным для многих промышленных ядов – углеводов, спиртов и т.д. Н.В. Лазаревым также развивалась идея о зависимости токсического действия веществ от их химического строения [14,15].

Результаты работ, проведенных во 2-м периоде, существенно дополнили диагностику и лечение ОО. Для лечения стали применять антидоты, вводимые парентерально, позволяющие обезвреживать яды непосредственно в крови. Достижения аналитической химии уже позволяли выделять и количественно (весовым методом) определять яды химическими методами в биологическом материале [12,15–17]. В 1935 г. в Ленинграде был открыт Санитарно-химический институт (в настоящее время – Институт токсикологии). Сформировались первые советские научные школы токсикологии (Н.В. Лазарев, Н.С. Правдин), впервые в СССР изданы руководства по токсикологии [9,10,18,19].

В 30–50-х годах О.И. Глазовой в Институте им. Н.В. Склифосовского были проведены исследования, уже непосредственно связанные с диагностикой и лечением ОО. Эти исследования имеют большую ценность еще потому, что в них были высказаны суждения (хотя и не подкрепленные лабораторными данными), созвучные современным понятиям количественной меры ОО, значимости концентрационного, пространственного и временного факторов в патогенезе ОО, а также важности ускоренной детоксикации организма в их лечении [20]. Начиная с этого момента, роль представителей неотложной терапевтической клиники в изучении ОО значительно возросла.

Третий период – формирования клинической токсикологии как самостоятельного раздела медицинской науки (50–70-е годы XX века).

В этом периоде возникла важная задача разработки специализированных методов диагностики и лечения ОО, так как бурное развитие химической промышленности и резкий рост производства различных ле-

карственных средств, сопровождаясь значительным повышением частоты неблагоприятных исходов, стали новыми вызовами для клиницистов. В то же время для лечения эндотоксикозов, вызванных почечной, печеночной недостаточностью и другими причинами, уже активно применялись высокоэффективные методы искусственной детоксикации (МИД) (операция замещения крови, сорбционно-диализные) [21–24]; вышли в свет и работы, рекомендуемые их для лечения ОО [25].

В связи с появлением новых технических возможностей лечения ОО основной стала идея выделения их стадий и ускорения выведения токсикантов с помощью МИД.

В результате проведенных исследований для практических целей были выработаны подходы, позволившие поднять лечение и диагностику при ОО на новую высоту. В частности, было предложено понятие токсикогенной и соматогенной стадии ОО, что способствовало упорядочению начавшегося активного применения МИД для выведения экзогенных токсикантов и коренным образом изменило лечебные технологии [26–28]. Появились также антидоты, способные устранять последствия воздействия токсикантов на уровне функциональных систем (холинолитики, реактиваторы холинэстеразы) [29], а также для лечения частых в тот период ОО тиоловыми ядами [30,25].

В диагностическом плане крупным шагом стала разработка клинической токсикометрии [27]. Это позволило принципиально улучшить диагностику ОО за счет выявления наиболее уязвимых для действия токсикантов органов и систем, а также намного расширило возможности оценки эффективности лечения.

Новый лечебно-диагностический уровень при ОО оказался достижимым благодаря внедрению в практику химико-токсикологических лабораторий методов количественного и качественного аппаратного определения в биосредах живых лиц токсикантов, наиболее часто вызывающих отравления. Эти методы были разработаны для судебно-химических целей, в чем решающая заслуга принадлежит проф. М.Д. Швайковой [31], а затем адаптированы для нужд клинической токсикологии [32].

Важнейшим итогом развития клинической токсикологии в 3-м периоде явилась организация специализированной помощи при ОО в рамках токсикологического отделения стационара и бригады скорой медицинской помощи [33,34].

В 1961 г. была организована выездная токсикологическая бригада при Станции скорой медицинской помощи Москвы, а в 1963 г. открылось первое в стране токсикологическое отделение (центр) в Институте им. Н.В. Склифосовского под руководством профессоров П.Л. Сухинина, а затем Е.А. Лужникова. В этом плане неопределимое значение имела Первая Всероссийская конференция по клинической токсикологии, в значительной мере благодаря результатам которой были приняты государственные решения, и в 1970 г. созданы 12 токсикологических отделений в Москве, Ленинграде и других крупных городах РСФСР. В рассматриваемый период сформировались также новые научные школы – С.Н. Голикова в Ленинграде и Е.А. Лужникова в Москве, а в научных изданиях на данном этапе все большее внимание уделялось применению МИД [28,35].

Специализированные отделения стали базой для регулярного использования МИД, в результате чего при наиболее тяжелых формах ОО удалось существенно, до 25–30%, снизить летальность, ранее достигавшую 80–90%.

Четвертый период – дальнейшего совершенствования лечебно-диагностического и организационного обеспечения ОО (1980 г. – до настоящего времени).

В этом периоде важными были такие задачи, как создание технологий лечения ОО и организации самостоятельной токсикологической службы в России в целях повсеместного улучшения результатов лечебных мероприятий на региональном уровне.

Преобладающими стали идеи совершенствования лечения за счет комплексного неспецифического немедикаментозного детоксикационного подхода с устранением сопутствующего эндотоксикоза и активной реабилитацией больных [36–38].

Для решения поставленных задач была разработана и внедрена в практику технология комплексной детоксикации организма при ОО, включающая упомянутые сорбционно-диализные методы, энтеральную детоксикацию и физико-химическую гемотерапию [39–45]. Детоксикационный подход был также успешно использован для лечения опасных для жизни органических нарушений при ОО [46–52], экстренного устранения сопутствующего эндотоксикоза и активного ведения реабилитационного периода [37, 38, 51]. Этот подход стал определяющим в работе лаборатории острой печеночно-почечной недостаточности, открывшейся в 1974 г. в НИИ СП им. Склифосовского по ини-

циативе сотрудников токсикологического отделения института, и в 1993 г. преобразованной в отделение лечения острых эндотоксикозов.

Для улучшения лечебно-диагностического процесса в специализированных химико-токсикологических лабораториях внедрены новые аналитические методы, выполняемые с помощью высокочувствительной аппаратуры; созданы поисковые компьютерные базы лабораторных данных для автоматической диагностики токсичных соединений при ОО [53, 54]. Начато также планомерное использование лабораторных показателей эндотоксикоза и гомеостаза для оценки тяжести ОО и качества их лечения [51, 55]. Все это существенно расширило спектр анализируемых веществ и предоставило дополнительные возможности для оценки эффективности новых детоксикационных технологий, уточнения их объема и состава в конкретных клинических ситуациях.

Результаты данного этапа развития клинической токсикологии оказались наиболее значительными. Была создана сеть токсикологических центров (более 40), служащая основой для внедрения передовых достижений в области клинической токсикологии и сейчас обеспечивающая специализированной помощью 50% территории РФ [56].

Большая роль в решении организационных и других вопросов клинической токсикологии стала принадлежать Информационно-консультативному токсикологическому центру МЗ РФ (ныне ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр ФМБА России»), сформировавшемуся в самостоятельное учреждение благодаря активному участию в этом сотрудников токсикологического центра НИИ СП им. Н.В. Склифосовского [57–59].

В результате использования в составе комплексной детоксикации эфферентных и физико-химических методов удалось добиться экстренной коррекции нарушенных показателей гомеостаза, значительного (в 2–12 раз) ускорения очищения крови и устранения за счет этого экзо- и эндотоксикоза [44,45].

Сформирована нормативно-правовая база организации и функционирования токсикологической службы страны, основу которой изначально составили результаты деятельности токсикологического центра НИИ СП им. Н.В. Склифосовского [60].

В четвертом периоде специалистами наиболее крупных токсикологических центров – Санкт-Петербурга, Екатеринбурга и Мо-

сквы, были подготовлены крупные научные работы [27, 44, 45, 52, 61, 62 и др.]. Среди них следует особо отметить первое Национальное руководство по медицинской токсикологии под редакцией Е.А. Лужникова, содержащие наиболее полные современные сведения по различным аспектам ОО [63].

Результативность осуществленных исследований отчетливо отразилась в динамике летальности в отделении реанимации и интенсивной терапии ОО на фоне различных вариантов детоксикационной терапии (по данным НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, 1979–2006 гг.). Так, при использовании отдельных МИД летальность составила 14,5% (1979 г.), на фоне их сочетанного применения – 12,1% (1983 г.), а при их комплексном использовании с физико-химической гемотерапией – 5,8% (2006 г.) [44]. Как видно, летальность при критических состояниях, связанных с ОО, удалось снизить в 2,5 раза. Сроки реабилитации при ОО также заметно сократились – в 1,3 раза [64].

Анализ летальности от ОО в РФ, в свою очередь, указывает на ее существенное снижение в 4-м периоде – в токсикологическом отделении г. Волгограда – с 28% в 1971 г. до 9,5% в 1980 г., в таком же отделении г. Читы – соответственно с 14,3% до 3,5 %; с 4,14 до 3,69% в 2006–2008 гг., а частоты смертей от ОО за 8 лет (в 2000–2008 гг.) – с 59,1 до 47,5 на 100 тыс. населения [63].

Заключение. По мнению Ю.П. Лисицына [65], периодизация истории медицины является весьма сложной задачей ввиду отсутствия единой схемы периодизации всеобщей истории. В том числе историю «дочерних» дисциплин (а не «старых», таких как анатомия, хирургия и терапия) целесообразно разделять на 3 части: 1) развитие в общем русле медицины до ее дифференциации, 2) развитие внутри той или иной крупной отрасли медицины и 3) обособление в самостоятельную дисциплину. Согласно полученным нами сведениям, научная история клинической токсикологии в России началась со 2-го обозначенного выше этапа, что совпадает с мнением других исследователей [66]. Еще одним поводом для подготовки представленной работы стало появление научно обоснованных критериев периодизации истории частных отраслей медицины, пока использованных только в хирургии [2]. Обоснование неформальных периодов в развитии клинической токсикологии позволило понять не только особенности развития этой дисциплины, но и дает возможность перейти к решению прогностических задач.

Сравнительно недавнее выделение клинической токсикологии в специализированную отрасль медицины можно объяснить ее мультидисциплинарным характером, требующим осмысления и привлечения опыта базовых направлений теоретической и клинической медицины. Как следует также из сказанного выше, принципиальные сдвиги в развитии клинической токсикологии связаны с научно-техническим прогрессом, благодаря чему в распоряжении специалистов оказались средства специфической фармакотерапии, детоксикационная аппаратура, а также передовые методы химико-токсикологической лабораторной диагностики.

Таким образом, сочетание субъективного (выбор методов лечения) и объективного (наличие материально-технических возможностей) факторов при необходимой организации обеспечило поступательное развитие клинической токсикологии.

Выводы. 1. Использованные критерии периодизации частных отраслей медицины при их комплексном применении дополняют друг друга и позволяют выделить в истории клинической токсикологии в России 4 периода: 1-й (2-я половина XIX века) – зарождения, 2-й (1-я половина XX века) – становления, 3-й (50–70-е годы XX века) – развития (формирования клинической токсикологии как самостоятельного научно-практического направления) и 4-й (1980 г. – до настоящего времени) – технологический (современный).

2. Периодизация истории клинической токсикологии в России, проведенная с помощью предложенных критериев, свидетельствует об универсальности предпринятого подхода и делает целесообразным его использование в отношении других частных отраслей медицины.

3. Особенности клинической токсикологии как самостоятельного научного и практического направления клинической медицины являются следующие:

- зависимость ее развития от научного уровня базовых областей теоретической и клинической медицины;
- тесная связь с научно-техническими достижениями, позволившими разработать многокомпонентные технологии для достоверной диагностики и управляемого ведения детоксикации организма;
- необходимость создания специализированной токсикологической службы, функционирующей на основании соответствующей нормативно-правовой базы, с целью внедрения достижений клинической токсикологии в практику.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лужников Е.А. Из истории медицинской токсикологии. В кн.: Лужников Е.А., ред. Медицинская токсикология: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012: 16-22.
2. Богопольский П.М. К периодизации истории хирургии пищевода в России. Вестн. хир. гастроэнтерол.: Актуальные вопросы хирургической гастроэнтерологии: Материалы II съезда Росс. общ-ва хир. гастроэнтерол. (Геленджик, 30 октября-2 ноября 2012 г.); 2012; Прил.: 4-5.
3. Сеченов И.М. Материалы для будущей физиологии алкогольного опьянения. СПб; 1860.
4. Павлов И.П. Двадцатилетний опыт объективного изучения высшей нервной деятельности (поведения) животных: Условные рефлексы: сб. статей, докладов, лекций и речей. М.: Биомедгиз, 1938.
5. Нелюбин А.П. Частная судебно-медицинская и полицейская химия с присовокуплением частной токсикологии, или науки о ядах и противудядных средствах. Ч. 2. СПб; 1851.
6. Пеликан Е.В., ред. Руководство к токсикологии, составленное по Рабюто «Elements de toxicologie». СПб; 1878.
7. Блосфельд Г.И. Судебная токсикология, преимущественно в техническом и формальном отношении, с приложением нескольких примеров судебно-токсикологических свидетельств. Казань; 1856.
8. Трапп Ю.К. Первые пособия при отравлениях ядовитыми веществами и судебно-химическое исследование главных ядов. СПб: Типография М. Хана; 1863.
9. Аничков С.В., Лихачев А.А., Предтеченский Б.И. Медико-санитарные основы военно-химического дела. М.-Л.: Медгиз; 1933.
10. Правдин Н.С. Руководство по промышленной токсикологии. М.-Л.: Биомедгиз; 1934.
11. Хлопин Г.В. Военно-санитарные основы противогазового дела. Л.: Научно-технич. отдел ВСНХ; 1924.
12. Карасик В. М., Лихачев А. Г., Мессель М. А., Тушинский М. Д. Первая помощь при острых отравлениях. Л.: Медгиз, 1949.
13. Кравков Н.П. О различных фазах действия ядов на изолированное сердце. Русский врач. 1911; 41: 1565-1571.
14. Лазарев Н.В. Неэлектролиты. Опыт биолого-физико-химической их систематизации. Л.: ВМА; 1944.
15. Лазарев Н. В. Основные принципы лечения острых отравлений. 9 лекций для врачей. Л.: ВМА; 1944.
16. Косоротов Д.П. Краткий учебник токсикологии. СПб: Типогр. Я. Третья; 1907.
17. Степанов А. В. Судебная химия (токсикологический анализ) и определение профессиональных ядов. М.-Л.: НКЗ СССР, Медгиз; 1939.
18. Глинчиков В.И. Клиника и терапия газоотравленных. М.: Гос. воен. изд.; 1925.
19. Лазарев Н.В. Основы промышленной токсикологии. Л.: Медгиз; 1938.
20. Глазова О.И. Отравления и первая помощь при них (краткий справочник). М.: Медгиз; 1952.
21. Глозман О.С., Касаткина А.П. Полное замещение и обменное переливание крови как методы экспериментальной терапии. М.: Изд-во АМН СССР; 1950.
22. Kolff W.J. The artificial kidney – past, present, and future. Circulation; 1957. 15 (2): 285-294.
23. 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(3): 379-390.
24. Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н. Гемосорбция. М.: Медицина; 1978.
25. Карасик В.М. Отравления. В кн.: Многоотомное руководство по внутренним болезням. Т. X. М.: Медгиз; 1963: 7-71.
26. 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 Всерос. науч.-практ. конф. по клинич. токсикологии. 26-28 нояб. 1968 г. М.; 1970: 243-247.
27. Лужников Е.А., Дагаев В.Н., Фирсов Н.Н. Основы реаниматологии при острых отравлениях. М.: Медицина; 1977.
28. Комаров Б.Д., Лужников Е.А., Шиманко И.И. Хирургические методы лечения острых отравлений. М.: Медгиз; 1981.
29. Голиков С.Н., Заугольников С.Д. Реактиваторы холинэстераз. Л.: Медицина; 1970.
30. Петрунькин В.Е. Итоги синтеза тиоловых соединений как антидотов мышьяка и тяжелых металлов. В кн.: Тиоловые соединения в медицине. Киев; 1959: 7-18.
31. Швайкова М.Д. Токсикологическая химия. М.: Медицина; 1975.
32. Шепелев В.М., Морозов В.С., Лисовик Ж.А., Колдаев А.А. Методы спектрофотометрии и газовой хроматографии в диагностике острых отравлений. В кн.: Диагностика, клиника и лечение острых отравлений: тр. I Всерос. науч.-практ. конф. 26-28 нояб. 1968 г. М.; 1968: 223-225.
33. 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 Всерос. науч.-практ. конф. по клинич. токсикологии. 26-28 нояб. 1968 г. М.; 1970: 11-18.
34. Степанский Г.А. Неотложные задачи и перспективы развития лечебной помощи при острых химических болезнях. В кн.: Острые отравления: диагностика, клиника и лечение: тр. I Всерос. науч.-практ. конф. по клинич. токсикологии. 26-28 нояб. 1968 г. М.; 1970: 25-30.
35. Голиков С.Н., ред. Неотложная помощь при острых отравлениях: справочник по токсикологии. М.: Медицина; 1978.
36. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С. Коррекция нарушений химического гомеостаза при острых экзогенных отравлениях. Эфферентная терапия (СПб). 1995; 3: 3-12.
37. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Медвежникова О.В., Кутушов М.В. К вопросу о развитии эндотоксиноза в токсикогенной стадии острых отравлений. В кн.: Детоксикационная терапия при травматической болезни и острых хирургических заболеваниях. Респ. сб. Лен. НИИ СП. Л.; 1989: 150-160.
38. Бадалян А.В., Гольдфарб Ю.С., Лужников Е.А., Ельков А.Н., Красильников А.М. Проблема реабилитации при острых отравлениях химической этиологии. Анестезиол. и реаниматол. 2008; 6: 39-41.
39. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Поцхверия М.М., Кутушов М.В., Мисуловин Я.И., Ястребова Е.В. и др. Физиогемотерапия в комплексной детоксикации организма при острых экзогенных отравлениях. Сов. мед. 1990; 7: 68-72.
40. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Ястребова Е.В., Поцхверия М.М., Ельков А.Н., Бадалян А.В. и др. Детоксикационные эффекты физиогемотерапии при острых отравлениях. Токсикол. вестн. 1998; 1: 7-13.
41. Гольдфарб Ю.С., Лужников Е.А., Ястребова Е.В., Ельков А.Н., Бадалян А.В., Мелконян Ш.Л. Детоксикационные эффекты физико-химической гемотерапии при острых экзогенных отравлениях. Анестезиол. и реаниматол. 1998; 6: 7-11.
42. Маткевич В.А. Сравнительная оценка эффективности методов энтеральной детоксикации организма на примере острого перорального отравления амитриптилином. Токсикол. вестн. 2007; 2: 29-34.
43. Петров С.И. Применение гипохлорита натрия в комплексном лечении острых отравлений амитриптилином. Токсикол. вестн. 2003; 3: 29-34.
44. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Мусселиус С.Г. Детоксикационная терапия (руководство). СПб: Лань; 2000.
45. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С. Физиогемотерапия острых отравлений. М.: Медпрактика-М; 2002.
46. Шиманко И.И. Поражение почек при острых экзогенных отравлениях. М.: Медицина; 1977.
47. Лужников Е.А., Савина А.С., Галанкина И.Е. Токсическое поражение сердца при острых отравлениях химической этиологии. Кардиология. 1986; 5: 5-11.
48. Брусин К.М. Токсическое поражение сердца при острых отравлениях химической этиологии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2003.
49. Багненко С.Ф., ред. Острая печеночно-почечная недостаточность при острых отравлениях в кн.: Ливанов Г.А., Михальчук М.А. Калмансон, ред. Багненко С.Ф. Острая почечная недостаточность при критических состояниях. СПб: СПб НИИ Скорой Помощи им. И.И. Джанелидзе; 2005.
50. Ильяшенко К.К., Лужников Е.А. Токсическое поражение дыхательной системы при острых отравлениях. М.: ИД Медпрактика-М; 2004.
51. Ливанов Г.А., Малахова М.Я., Великова В.Д., Нарзикулов Р.А., Батоциренов Б.В. Влияние гемосорбции на течение эндогенной интоксикации при острых тяжелых отравлениях нейротропными ядами. Тез. докл. VII Всерос. съезда анестезиол.-реаниматол. СПб; 2000.
52. Лужников Е.А., Сенцов В.Г., Суходолова Г.Н., Меледин В.Ю. Острые отравления амитриптилином. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та; 2000.
53. Савчук С.А., Григорьев А.М., Катаев С.С., Изотов Б.Н., Гофенберг М.А., Гизетдинова Л.А. и др. Идентификация наркотических и психоактивных веществ в биологических жидкостях и волосах методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием: информ. письмо. Наркология. 2014; 1: 97-100.
54. Белова М.В., Лисовик Ж.А., Клюев А.Е., Колдаев А.А., Остапенко Ю.Н. Химико-токсикологическая диагностика острых химических отравлений: сб. матер. М.: ООО «Графикон Принт»; 2007.
55. Белова М.В., Ильяшенко К.К., Ермохина Т.В., Лужников Е.А., Давыдов Б.В., Матвеев С.Б. Нарушения гомеостаза при острых отравлениях психотропными препаратами. Общая реаниматология. 2007; Т. 3 (1): 28-31.
56. О состоянии токсикологической службы в стране (интервью с главным токсикологом ДЗ г. Москвы и МЗ РФ Ю.Н. Остапенко). Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». 2014; 3: 7-10.
57. Остапенко Ю.Н., Хонелидзе Р.С., Литвинов Н.Н. Организация работы центров (отделений) острых отравлений во внедрении современных лечебно-диагностических и информационных технологий: метод. указания № 2003/57; Гос. договор с МЗ РФ № 977-Д от 19.12.2002. М.: МЗ РФ, ИКТЦ; 2003.
58. 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.
59. Лужников Е.А., Кабанова С.А., Ю.С. Гольдфарб, Остапенко Ю.Н. В.Н. Дагаев и его вклад в клиническую токсикологию. В кн.: Матер. международной конф. «Медицинская профессура СССР». М.; 2014: 180-182.
60. 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.
61. Кутченко С.А. Основы токсикологии: научно-методическое издание. СПб: Фолиант; 2004.
62. Бонитенко Е.Ю. Острые отравления лекарственными средствами и наркотическими веществами. Ч.1. СПб: ЭЛБИ-СПб; 2010.
63. Лужников Е.А., ред. Медицинская токсикология: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
64. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Бадалян А.В. Детоксикационная терапия острых отравлений химической этиологии на современном этапе (лекция). Токсикол. вестн. 2014; 3: 9-17.
65. Лисицын Ю.П. Вопросы периодизации истории медицины. М.; 1958.
66. Попов В.В., Гребенюк А.Н., Пиголкин Ю.И., Толмачев И.А., Божченко А.П., Тимошевский А.А. Судебная медицина как колыбель отечественной токсикологии. Суд.-мед. экспертиза. 2013; 5: 57-60.

REFERENCES:

1. *Luzhnikov E.A.* Iz istorii meditsinskoy toksikologii [From the History of Medical Toxicology]. In: Ed. E.A. Luzhnikov. Meditsinskaya toksikologiya: Natsional'noe rukovodstvo [Medical Toxicology]. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2012: 16–22. (In Russian).
2. *Bogopol'skiy P.M.* K periodizatsii istorii khirurgii pishchevoda v Rossii [By the periodization of the history of esophageal surgery in Russia]. In: Mater. II s'ezda Ross. o-va khirurgich. gastroenterologii [Proc. II Congr. of Russ. Soc. Surg. Gastroenterology]. Gelendzhik, October 30–November 2, 2012. Vestnik khirurgicheskoy gastroenterologii. 2012; Suppl.: 4–5. (In Russian).
3. *Sechenov I.M.* Materialy dlya budushchey fiziologii alkohol'nogo op'yaniya [Materials for the future alcohol intoxication physiology]. Saint-Petersburg, 1860. (In Russian).
4. *Pavlov I.P.* Dvadsatiletniy opyt ob'ektivnogo izucheniya vysshey nervnoy deyatel'nosti (povedeniya) zhiivotnykh [Twenty years of experience of objective study of higher nervous activity (behavior) of animals]. Moscow: Gos. izd-vo biol. i med. lit-ry, 1938. (In Russian).
5. *Nelyubin A.P.* Chastnaya sudebno-meditsinskaya i politseyskaya khimiya s prisovokupleniem chastnoy toksikologii, ili nauki o yadakh i protivuyadnykh sredstvakh [Particular forensic medical and police chemistry with inclusion of particular toxicology, or the science of poisons and antipoison remedies]. Saint-Petersburg, 1851. Pt. 2. (In Russian).
6. Ed. E.V. Pelikan Rukovodstvo k toksikologii [Guide to Toxicology]. Saint-Petersburg, 1878. (In Russian).
7. *Blofel'd G.I.* Sudebnaya toksikologiya preimushchestvenno v tekhnicheskoy i formal'nom otnoshenii s prilozheniem neskol'kikh primerov sudebno-toksikologicheskikh svideatel'stv [Forensic toxicology mainly in technical and formal relations with addition of several examples of forensic toxicological evidences]. Kazan, 1856. (In Russian).
8. *Trapp Yu.K.* Pervye posobiya pri otravleniyakh yadovitymi veshchestvami i sudebno-khimicheskoe issledovanie glavneyshikh yadov [First aid in case of poisoning by toxic substances and forensic chemical research of the most important toxins]. Saint-Petersburg: Tipografiya M. Khana, 1863. (In Russian).
9. *Anichkov S.V., Likhachev A.A., Predtechenskiy B.I.* Mediko-sanitarnye osnovy voenno-khimicheskogo dela [Public health and sanitary basics of military-chemical business]. Moscow-Leningrad: Medgiz Publ., 1933. (In Russian).
10. *Pravdin N.S.* Rukovodstvo po promyshlennoy toksikologii [Guide to Industrial Toxicology]. Moscow-Leningrad: Biomedgiz Publ., 1934. Vol. 1. (In Russian).
11. *Khlopin G.V.* Voенно-sanitarnye osnovy protivogazovogo dela [Military and sanitary-protection bases of gas mask subject]. Leningrad: Nauchno-tekhnich. otdel VSNKh Publ., 1926. (In Russian).
12. *Karasik V. M., Likhachev A. G., Messel' M. A., Tushinskiy M. D.* Pervaya pomoshch' pri ostrykh otravleniyakh [First aid for acute poisonings]. Leningrad: 1949. (In Russian).
13. *Kravkov N.P.* O razlichnykh fazakh deystviya yadov na izolirovannoe serdtse [Different phases of the action of poisons on the isolated heart]. Russkiy vrach. 1911; 41: 1565–1571. (In Russian).
14. *Lazarev N. V.* Neelektrolity. Opyt biologo-fiziko-khimicheskoy ikh sistematizatsii [Non-electrolytes. Experience of biological and physico-chemical systematization]. Leningrad: VMA Publ., 1944. (In Russian).
15. *Lazarev N. V.* Osnovnye printsipy lecheniya ostrykh otravleniy. 9 lektsiy dlya vrachey [Basic principles of treatment of acute poisoning. 9 lectures for physicians]. Leningrad: VMA Publ.; 1944. (In Russian).
16. *Kosorotov D.P.* Kratkiy uchebnik toksikologii [Toxicology brief tutorial]. Saint-Petersburg: Tipogr. Ya. Treya Publ., 1907. (In Russian).
17. *Stepanov A. V.* Sudebnaya khimiya (toksikologicheskii analiz) i opredelenie professional'nykh yadov [Forensic chemistry (toxicological analysis) and the definition of occupational poisons]. 2nd Ed. Moscow-Leningrad: NKZ SSSR, Medgiz Publ.; 1939. (In Russian).
18. *Glinchikov V.I.* Klinika i terapiya gazootravleniykh [Clinic and therapy of poisoned by gases]. Moscow: Gos. voen. izd. Publ.; 1925. (In Russian).
19. *Lazarev N.V.* Osnovy promyshlennoy toksikologii [Fundamentals of Industrial Toxicology]. Leningrad.: Medgiz Publ.; 1938. (In Russian).
20. *Glazova O.I.* Otravleniya i pervaya pomoshch' pri nikh (Kratkiy spravochnik). [Poisonings and first aid for them]. Moscow: Medgiz Publ.; 1952. (In Russian).
21. *Gluzman O.S., Kasatkina A.P.* Polnoe zameshchenie i obmennoe perelivanie krovi [Complete replacement and exchange blood transfusion]. Moscow: Izd-vo AMN SSSR Publ.; 1950. (In Russian).
22. *Kolff W.J.* The artificial kidney – past, present, and future. Circulation. 1957; 15 (2): 285–294.
23. *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.
24. *Lopukhin Yu.M., Molodentov M.N.* Gemosorbtsiya. [Hemosorption]. Moscow: Meditsina Publ.; 1978. (In Russian).
25. *Karasik V.M.* Otravleniya [Poisonings]. In: Mnogotomnoe rukovodstvo po vnutrennim boleznyam [Multivolume guide of internal medicine]. Moscow: Medgiz Publ., 1963. Vol. X. 7–71.
26. *Sukhinin P.L., Luzhnikov E.A., Shimanko I.I., Firsov N.N., Yaroslavskiy A.A.* Otsenka razlichnykh metodov vyvedeniya toksicheskikh veshchestv iz organizma pri ostrykh otravleniyakh [Evaluation of different methods of removing toxic substances from the body in acute poisoning]. Ostrye otravleniya: diagnostika, klinika i lechenie: tr. I-y Vseros. nauch.-prakt. konf. po klinich. toksikologii [Acute poisoning. Diagnosis, clinic and treatment: scientific papers of 1st All-Russian Conf. Clinical Toxicology]. Moscow, November 26–28, 1968. Moscow, 1970. 243–247. (In Russian).
27. *Luzhnikov E.A., Dagaev V.N., Firsov N.N.* Osnovy reanimatologii pri ostrykh otravleniyakh [Fundamentals of resuscitation in acute poisoning]. Moscow: Meditsina Publ.; 1977. (In Russian).
28. *Komarov B.D., Luzhnikov E.A., Shimanko I.I.* Khirurgicheskie metody lecheniya ostrykh otravleniy [Surgical methods of acute poisoning treatment]. Moscow: Medgiz Publ.; 1981. (In Russian).
29. *Golikov S.N., Zaugol'nikov S.D.* Reaktivatory kholinesteraz [Reaktivators of cholinesterase]. Leningrad: Meditsina Publ.; 1970. (In Russian).
30. *Petrin'kin V.E.* Itogi sinteza tiolovykh soedineniy kak antidotov mysh'yaka i tyazhelykh metallov [The results of the synthesis of thiol compounds as antidotes of arsenic and heavy metals]. In: Tiolovye soedineniya v meditsine [Thiol compounds in medicine]. Kiev, 1959: 7–18. (In Russian).
31. *Shvaykova M.D.* Toksikologicheskaya khimiya [Toxicological Chemistry]. Moscow: Meditsina Publ.; 1975. (In Russian).
32. *Shepelev V.M., Morozov V.S., Lisovik Zh.A., Koldaev A.A.* Metody spektrofotometrii i gazovoy khromatografii v diagnostike ostrykh otravleniy [Spectrophotometry and gas chromatography methods in the diagnosis of acute poisonings]. Ostrye otravleniya: diagnostika, klinika i lechenie: tr. I-y Vseros. nauch.-prakt. konf. po klinich. toksikologii [Acute poisoning. Diagnosis, clinic and treatment: scientific papers of 1st All-Russian Conf. Clinical Toxicology]. Moscow, November 26–28, 1968. Moscow, 1970. 223–225. (In Russian).
33. *Sukhinin P.L., Dagaev V.N., Luzhnikov E.A.* Organizatsiya i rabota tsentra po lecheniyu ostrykh otravleniy NII im. N.V. Sklifosovskogo [The organization and operation of the Center for the treatment of acute poisoning in the N.V. Sklifosovskoy Research Institute]. Ostrye otravleniya: diagnostika, klinika i lechenie: tr. I-y Vseros. nauch.-prakt. konf. po klinich. toksikologii [Acute poisoning. Diagnosis, clinic and treatment: scientific papers of 1st All-Russian Conf. Clinical Toxicology]. Moscow, November 26–28, 1968. Moscow, 1970: 11–18. (In Russian).
34. *Stepanskiy G.A.* Neotlozhnye zadachi i perspektivy razvitiya lechebnoy pomoshchi pri ostrykh khimicheskikh boleznyakh [Urgent problems and perspectives of development of medical care for acute chemical illnesses]. Ostrye otravleniya: diagnostika, klinika i lechenie: tr. I-y Vseros. nauch.-prakt. konf. po klinich. toksikologii [Acute poisoning. Diagnosis, clinic and treatment: scientific papers of 1st All-Russian Conf. Clinical Toxicology]. Moscow, November 26–28, 1968. Moscow, 1970. 25–30. (In Russian).
35. Ed. S.N. Golikov. Neotlozhnaya pomoshch' pri ostrykh otravleniyakh: spravochnik po toksikologii [Emergency care in acute poisoning]. Moscow: Meditsina Publ.; 1978. (In Russian).
36. *Luzhnikov E.A., Gol'dfarb Yu.S.* Korrektsiya narusheniy khimicheskogo gomeostaza pri ostrykh ekzogenykh otravleniyakh [Correction of violations of the chemical homeostasis in acute exogenous poisonings]. Efferentnaya terapiya. 1995; 3: 3–12. (In Russian).
37. *Luzhnikov E.A., Gol'dfarb Yu.S., Medvezhnikova O.V., Kutushov M.V.* K voprosu o razvitiy endotoksikoza v toksikogennoy stadii ostrykh otravleniy [The Development of endotoxemia in toxicogenic stage of acute poisoning]. Detoksikatsionnaya terapiya pri travmaticheskoy bolezni i ostrykh khirurgicheskikh zabolevaniyakh. Resp. sb. Len. NII SP [Detoxification therapy for traumatic disease and acute surgical diseases. Rep. Sat. Len. Research Institute of the Urgent Care]. Leningrad: 1989: 150–160. (In Russian).
38. *Badalyan A.V., Gol'dfarb Yu.S., Luzhnikov E.A., El'kov A.N., Krasil'nikov A.M.* Problema reabilitatsii pri ostrykh otravleniyakh khimicheskoy etiologii [The problem of rehabilitation in acute poisoning of chemical etiology]. Anesteziologiya i reanimatologiya. 2008; 6: 39–41. (In Russian).
39. *Luzhnikov E.A., Gol'dfarb Yu.S., Potokheriya M.M., Kutushov M.V., Misulovin Ya.I., Yastrebova E.V.* et al. Fiziogomoterapiya v kompleksnoy detoksikatsii organizma pri ostrykh ekzogenykh otravleniyakh [Physiohaemotherapy in a complex detoxification of the body in acute exogenous poisonings]. Sovetskaya meditsina. 1990; 7: 68–72. (In Russian).
40. *Luzhnikov E.A., Gol'dfarb Yu.S., Yastrebova E.V., Potokheriya M.M., El'kov A.N., Badalyan A.V.* et al. Detoksikatsionnye efekty fiziogomoterapii pri ostrykh otravleniyakh [Physiohaemotherapeutic detoxification effects in acute poisonings]. Toksikologicheskii vestnik. 1998; 1: 7–13. (In Russian).
41. *Gol'dfarb Yu.S., Luzhnikov E.A., Yastrebova E.V., El'kov A.N., Badalyan A.V., Melkonyan Sh.L.* Detoksikatsionnye efekty fiziko-khimicheskoy gemoterapii pri ostrykh ekzogenykh otravleniyakh [Detoxification effects of physical and chemical hemotherapy in acute exogenous poisonings]. Anesteziologiya i reanimatologiya. 1998; 6: 7–11. (In Russian).
42. *Matkevich V.A.* Svravnitel'naya otsenka effektivnosti metodov enteral'noy detoksikatsii organizma na primere ostrogo peroral'nogo otravleniya amitriptilinom [Comparative evaluation of methods of enteral detoxification of the body on an example of acute oral poisoning by amitriptyline]. Toksikologicheskii vestnik. 2007; 2: 29–34. (In Russian).
43. *Petrov S.I.* Primenenie gipokhlorita natriya v kompleksnom lechenii ostrykh otravleniy amitriptilinom [The use of sodium hypochlorite in the complex treatment of acute poisoning with amitriptyline]. Toksikologicheskii vestnik. 2003; 3: 29–34. (In Russian).
44. *Luzhnikov E.A., Gol'dfarb Yu.S., Musselius S.G.* Detoksikatsionnaya terapiya (rukovodstvo) [Detoxification Therapy]. Saint-Petersburg: Lan' Publ., 2000. (In Russian).
45. *Luzhnikov E.A., Gol'dfarb Yu.S.* Fiziogomoterapiya ostrykh otravleniy [Physiohaemotherapy of acute poisoning]. Moscow: Medpraktika-M Publ.; 2002. (In Russian).
46. *Shimanko I.I.* Porazhenie pochek pri ostrykh ekzogenykh otravleniyakh [Renal injury in acute exogenous poisoning]. Moscow: Meditsina Publ.; 1977. (In Russian).
47. *Luzhnikov E.A., Savina A.S., Galankina I.E.* Toksicheskoe porazhenie serdtsa pri ostrykh otravleniyakh khimicheskoy etiologii [Toxic damage of the heart in acute poisonings of chemical etiology]. Kardiologiya. 1986; 5: 5–11. (In Russian).
48. *Brusin K.M.* Toksicheskoe porazhenie serdtsa pri ostrykh otravleniyakh khimicheskoy etiologii: Avtorf. dis. ... d-ra med. nauk [Toxic damage of the heart in acute poisoning of chemical diseases. Rep. Sat. Len. Research

etiology Synopsis Dr. med. sci. diss.].1 Moscow, 2003. (In Russian).

49. Livanov G.A., Mikhal'chuk M.A., Kalmanson M.L., ed. S.F. Bagnenko. Ostraya pechenochno-pochechnaya nedostatochnost' pri ostrykh otravleniyakh (Acute hepatic-renal failure in acute poisoning). Saint-Petersburg: SPb NII skoroy pomoshchi im. I.I. Dzhanelidze Publ.; 2003. (In Russian).

50. Il'yashenko K.K., Luzhnikov E.A. Toksicheskoe porazhenie dykhatel'noy sistemy pri ostrykh otravleniyakh [Toxic damage of the respiratory system in acute poisoning]. Moscow: ID Medpraktika-M Publ.; 2004. (In Russian).

51. Livanov G.A., Malakhova M.Ya., Velikova V.D., Narzikulov R.A., Batotsyrenov B.V. Vliyaniye gemosorbtsii na techeniye endogennoy intoksikatsii pri ostrykh tyazhelykh otravleniyakh neyrotropnymi yadami [Hemosorption influence on the course of endogenous intoxication in acute severe poisoning with neurotropic poisons]. Tez. dokl. VII Vseross. s'ezda anesteziol.-reanimatol [Proc. rep. VII All-Russian Congress anaesthetist]. Saint-Petersburg; 2000: 157. (In Russian).

52. Luzhnikov E.A., Sentsov V.G., Sukhodolova G.N., Meledin V.Yu. Ostrye otravleniya amitriptilinom [Acute poisoning with amitriptyline]. Ekaterinburg: Izd-vo Ural. un-ta publ.; 2000. (In Russian).

53. Savchuk S.A., Grigor'ev A.M., Kataev S.S., Izotov B.N., Gofenberg M.A., Gizetdinova L.A. et al. Identifikatsiya narkoticheskikh i psikhoaktivnykh

veshchestv v biologicheskikh zhidkostyakh i volosakh metodom gazovoy khromatografii s mass-selektivnym detektirovaniem: inform. Pis'mo [Identification of drugs and psychoactive substances in biological fluids and hair by gas chromatography with mass selective detection: Inform. Letter]. Narkologiya. 2014; 1: 97-98. (In Russian).

54. Belova M.V., Lisovik Zh.A., Klyuev A.E., Koldaev A.A., Ostapenko Yu.N. Khimiko-toksikologicheskaya diagnostika ostrykh khimicheskikh otravleniy: sb. mater. [Chemical-toxicological diagnosis of acute chemical poisoning: collection of materials]. Moscow: OOO Grafikon Print; 2007. (In Russian).

55. Belova M.V., Il'yashenko K.K., Ermokhina T.V., Luzhnikov E.A., Davydov B.V., Matveev S.B. Narusheniya gomeostaza pri ostrykh otravleniyakh psichotropnymi preparatami [Disturbance of homeostasis in acute poisoning by psichotropic drug]. Obshchaya reanimatologiya. 2007; 3 (1): 28-31. (In Russian).

56. O sostoyanii toksikologicheskoy sluzhby v strane (interv'y u glavnym toksikologom DZ g. Moskvy i MZ RF Yu.N. Ostapenko) [Toxicology services in the Russian Federation (interview with the chief toxicologist DH Moscow and the Russian Ministry of Health Yu.N. Ostapenko)]. Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch'. 2014; 3: 7-10. (In Russian).

57. Ostapenko Yu.N., Khonelidze R.S.,

Litvinov N.N. Organizatsiya raboty tsentrov (otdeleniy) ostrykh otravleniy po vnedreniyu sovremennykh lechebno-diagnosticheskikh i informatsionnykh tekhnologiy: metod. ukazaniya № 2003/57; Gos. dogovor s MZ RF № 977-D ot 19.12.2002. [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 MH RF № 977-D of 19.12.2002]. Moscow: MZ RF, IKTS Publ., 2003. (In Russian).

58. Luzhnikov E.A., Dagaev V.N. Vvedenie [Introduction]. In: Informatsionnye problemy klinicheskoy toksikologii: sb. nauch. trudov NII skoroy pomoshchi im. N.V. Sklifosovskogo [Information problems of Clinical Toxicology. Coll. sci. papers. Moscow: N.V. Sklifosovsky Institute for Emergency Medicine]. Moscow, 1994. Vol. 93: 3-4. (In Russian).

59. Luzhnikov E.A., Kabanova S.A., Gol'dfarb Yu.S., Ostapenko Yu.N. V.N. Dagaev i ego vklad v klinicheskuyu toksikologiyu [V.N. Dagaev and his contribution to clinical toxicology]. Mater. m/nar. konf «Meditsinskaya professura SSSR» [Proc. Int. Conf "Medical professors of the USSR"]. Moscow, 2014: 180-182. (In Russian).

60. Khubutiya M.Sh., Luzhnikov E.A., Tadzhiev I.Ya., Kabanova S.A., Gol'dfarb Yu.S. Normativno-pravovoe regulirovaniye razvitiya otechestvennoy sluzhby klinicheskoy toksikologii [Legal regulation

of domestic clinical toxicology service]. Vestnik RAMN. 2013; 11: 66-72. (In Russian).

61. Kutsenko S.A. Osnovy toksikologii: nauchno-metodicheskoe izdanie [Fundamentals of Toxicology: Scientific-methodical edition]. Saint-Petersburg: Foliant Publ.; 2004. (In Russian).

62. Bonitenko E.Yu. Ostrye otravleniya lekarstvennymi sredstvami i narkoticheskimi veshchestvami [Acute poisoning by drugs and narcotics]. Saint-Petersburg: ELBI-SPb Publ.; 2010. Pt. 1. (In Russian).

63. Luzhnikov E.A., ed. Meditsinskaya toksikologiya: Natsional'noe rukovodstvo [Medical Toxicology]. Moscow: GEOTAR Media Publ., 2012. (In Russian).

64. Luzhnikov E.A., Gol'dfarb Yu.S., Badalyan A.V. Detoksikatsionnaya terapiya ostrykh otravleniy khimicheskoy etiologii na sovremennom etape (lektsiya) [Detoxification therapy of acute poisonings of chemical etiology at the present stage (lecture)]. Toksikologicheskii vestnik. 2014; 3: 9-17. (In Russian).

65. Lisitsyn Yu.P. Voprosy periodizatsii istorii meditsiny [Questions of periodization of the history of medicine]. Moscow; 1958. (In Russian).

66. Popov V.V., Grebenyuk A.N., Pigolkin Yu.I., Tolmachev I.A., Bozhchenko A.P., Timoshevskiy A.A. Sudebnaya meditsina kak kolybel' otechestvennoy toksikologii [Forensic medicine as the cradle of the national toxicology]. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza. 2013; 5: 57-60. (In Russian).

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

ABOUT PERIODIZATION OF CLINICAL TOXICOLOGY HISTORY IN RUSSIA

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

Four periods of the development of clinical toxicology in Russia can be distinguished with the help of scientifically validated criteria: the 1st (2nd half of the XIX century) – period of incipience, the 2nd (1st half of XX century) – period of formation, the third (50ties–70ties years of XX century) – period of development (formation as an independent scientific and practical direction) and the 4th (1980 –up to date) – technological (modern) period.

Peculiarities of clinical toxicology as an independent scientific and practical direction of clinical medicine are: the dependence of its development on the scientific level of the basic areas of medicine; close relationship with scientific and technological achievements that have secured the development of multi-component technologies for obtaining an accurate diagnosis and controlled management of detoxification of the body and the necessity to create a specialized toxicology service operating on the basis of a relevant regulatory framework in order to implement achievements of clinical toxicology in practice.

It is noted that the combination of subjective (choice of treatment methods) and objective factors (availability of material and technical capabilities) has provided the progressive development of clinical toxicology.

Keywords: *history of medicine, clinical toxicology, periods of development.*

Материал поступил в редакцию 13.04.2015 г.

УДК 615.099 – 615.91

СТРАТЕГИЯ И ТАКТИКА ОЦЕНКИ МУТАГЕННОСТИ ПЕСТИЦИДОВ

*В.Н. Ракитский, Ю.А. Ревазова,
Н.А. Илюшина*

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Московская область, г. Мытищи, Российская Федерация

Токсиколого-гигиеническая оценка риска здоровью населения в результате широкого применения пестицидов в качестве обязательной составной части включает анализ их мутагенной активности. Представлена стратегия оценки риска мутагенных воздействий пестицидов, основанная на их гигиенической классификации по критерию мутагенности. Обсуждаются изменения тактических подходов, произошедшие за последнее время. Предложен гармонизированный с международными требованиями комплекс методов оценки мутагенной активности пестицидов, основных метаболитов и компонентов их препаративных форм, позволяющий установить класс опасности по данному признаку вредности. Обсуждаются вопросы применения краткосрочных тестов для оценки мутагенности пестицидов-дженериков, определения потенциальной генотоксичности препаративных форм и прогноза канцерогенных свойств изучаемых веществ.

Ключевые слова: пестициды, дженерики, мутагенная активность, стратегия оценки.

Пестициды характеризуются рядом особенностей, включающих преднамеренность их внесения в окружающую среду и неизбежность циркуляции в ней, возможность контакта широких слоев населения с остаточными количествами пестицидов в продуктах питания, источниках водоснабжения и атмосферном воздухе. Кроме того, следует учитывать их высокую биологическую активность, направленную на уничтожение вредных живых объектов. Это требует жесткой регламентации при их применении для предотвращения неблагоприятного влияния пестицидов на здоровье населения. В связи с этим в большинстве стран мира пестициды подлежат обязательной государственной регистрации. Среди нежелательных активностей в токсикологической оценке особое место занимает потенциальная мутагенность действующих веществ пестицидов и компонентов их пре-

паративных форм. Мутагены могут действовать на соматические клетки, приводя к изменениям, которые проявляются в повышении общей заболеваемости, преждевременном старении и т.д., а также действовать на половые клетки, что сказывается на последующих поколениях. Имеется тесная этиологическая связь и корреляция мутагенности с канцерогенностью и тератогенностью. Именно поэтому анализ мутагенной активности пестицидов и их основных метаболитов является обязательной составной частью их токсикологической оценки, основой последующей оценки риска здоровью населения.

В настоящее время на территории Российской Федерации используется около 400 действующих веществ пестицидов и около 1000 их препаративных форм. Большая часть из них согласно современным международным и национальным требованиям прошла

Ракитский Валерий Николаевич (Rakitskii Valery Nikolaevich), академик РАН, профессор, и.о. директора ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им.Ф.Ф.Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Московская область, г. Мытищи, Российская Федерация, pesticide@yandex.ru

Ревазова Юлия Анатольевна (Revazova Yulia Anatolevna), доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник отдела генетической токсикологии ФБУН Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр гигиены им.Ф.Ф.Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Московская область, г. Мытищи, Российская Федерация, Revazova013@gmail.com

Илюшина Наталия Алексеевна (Ilyushina Natalia Alexeevna), кандидат биологических наук, заведующий отделом генетической токсикологии ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им.Ф.Ф.Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Московская область, г. Мытищи, Российская Федерация, Ilyushina-na@mail.ru

полную токсикологическую оценку, включая определение потенциальной мутагенности, канцерогенности, эмбриотоксичности, тератогенности, аллергенности и т.д. [1]. Токсиколого-гигиеническая оценка таких препаратов строго регламентирована с учетом классов опасности (СанПиН 1.2.2584-10) [2]. Разработана и апробирована методология оценки риска пестицидов для населения, включая работников, находящихся с ними в непосредственном контакте, которая позволяет комплексно и дифференцированно оценивать результаты гигиенических, токсикологических и эпидемиологических исследований, а также управлять риском при помощи средней территориальной пестицидной нагрузки, допустимой суточной дозы и комплекса профилактических мероприятий [3]. Это в сущности и представляет собой стратегию оценки безопасности использования пестицидов в среде обитания человека.

Вышесказанное полностью относится и к пестицидам-мутагенам. Стратегия исключения мутагенов из среды обитания человека основана на гигиенической классификации пестицидов по критерию мутагенности. Так вещества, отнесенные к 1-му и 2-му классу опасности не разрешены к применению.

В нашей стране предложен и реализуется гармонизированный с международными требованиями комплекс методов оценки мутагенной активности пестицидов, основных метаболитов и компонентов их препаративных форм, позволяющий установить класс опасности по данному признаку вредности.

Тактика оценки мутагенности [4] за последние несколько десятилетий изменилась незначительно. Так, сохранен основной принцип выявления различных типов мутаций (генных, хромосомных и геномных), т.е. речь идет об использовании батареи методов или тест-систем. Частично изменились протоколы некоторых методов, что связано с накоплением и анализом результатов многочисленных генетических исследований, определении валидности получаемых результатов и более полной характеристики генетических объектов в вариантах *in vivo* и *in vitro*, в том числе, и с учетом особенностей метаболизма изучаемых веществ. В будущем следует ожидать внедрения в практику новых, более информативных методов выявления мутагенности и возможного изменения стандартизованных протоколов исследования.

В настоящее время в сферу применения пестицидов включается большое количество, так называемых, дженериков, т.е. воспроизведенных препаратов на основе действующих

веществ – аналогов, созданных после окончания срока действия патента (20 лет) для оригинатора. При этом могут быть применены различные, в том числе и новые, технологии получения. В случае эквивалентности технических продуктов-«дженериков» техническим продуктам-оригинаторам сведения по токсикологической характеристике действующих веществ таких препаратов приводятся фирмой-регистрантом на основании данных, опубликованных в открытой печати. Однако в ходе ряда санитарно-токсикологических исследований нескольких эквивалентных оригинатору технических продуктов одного действующего вещества, различающихся между собой по чистоте и количественному и качественному составу примесей, установлено, что они могут существенно отличаться по своему действию в опытах на животных. Причем, наблюдается прямая корреляция эффектов с чистотой действующего вещества и составом примесей) [5,6]. Поэтому необходимо проведение санитарно-токсикологических исследований «дженериков», в том числе и оценки мутагенности с использованием основных краткосрочных методов.

Основные методы включают: оценку индукции генных мутаций на микроорганизмах (тест Эймса, салмонелла/микросомы); анализ индукции микроядер (микроядерный тест) или аберраций хромосом в клетках костного мозга млекопитающих *in vivo*, анализ ДНК-повреждений в соматических клетках млекопитающих *in vivo* [7,8].

В ряде случаев используют дополнительные методы оценки мутагенности. Так, это представляется необходимым при наличии информации о мутагенной активности структурных аналогов в тестах, не отнесенных к основным; органной специфичности действия вещества; специфической активности вещества (сильный бактериостатический эффект, сильное угнетение деления клеток кровяной системы и т.д.), ограничивающей использование основных тестов.

К дополнительным методам следует отнести оценку хромосомных аберраций и микроядер, а также повреждений ДНК в клетках млекопитающих и человека *in vitro*. Цитогенетическое исследование хромосомных аберраций в лимфоцитах и клетках буккального эпителия человека может быть использовано при проведении эпидемиологических исследований или в процессе изучения условий применения пестицида в сельском хозяйстве у тех специалистов, которые непосредственно осуществляют эти работы.

Препаративные формы включают в свой

состав вспомогательные вещества (растворители, эмульгаторы и пр.), которые могут модифицировать как токсикологические характеристики действующего вещества, так и его потенциальную мутагенность. Из этого следует, что краткосрочные тесты оценки суммарной мутагенной активности могут и должны быть использованы для оценки потенциальной генотоксичности препаративных форм.

Наконец, крайне важным представляется использование методов оценки мутагенности для прогноза канцерогенных свойств изучаемых веществ. Хорошо известно, что канцерогены могут быть генотоксичными (роль мутационных событий на этапе инициации опухолевого процесса) и негенотоксичными (промотирующая составляющая канцерогенеза и эпигенетические влияния). Негенотоксические канцерогены или их метаболиты напрямую не реагируют с ДНК и положительный ответ на генотоксичность дают, как правило, в одном или нескольких тестах *in vitro*. Механизм их действия сводится к промоции спонтанной инициации, цитотоксичности со стойкой клеточной пролиферацией, оксидативному стрессу с образованием молекул активного кислорода, торможению апоптоза и др. Однако целый ряд таких эффектов можно наблюдать и в экспериментах по выявлению мутагенности [9,10]. Таким образом, прогностичность мутагенных тестов для канцерогенеза несомненна.

Результаты оценки мутагенной активности используются для установления класса опасности по мутагенному эффекту согласно гигиенической классификации пестицидов и агрохимикатов по степени опасности (СанПиН 1.2.2584-10) [2] и для разработки гигиенических нормативов содержания пестицидов в объектах окружающей среды с учетом мутагенности для обеспечения их безопасности [11]. Понятно, что используемые методы требуют специальной квалифицированной подготовки и должны проводиться опытными сотрудниками, прошедшими специальное обучение в области генетических исследований.

Установление классов опасности необходимо не только для регистрации пестицидов на сроки от 2 – до 10 лет, с разрешением их применения в соответствующих дозах и концентрациях для определенных сельскохозяйственных культур, но и для установления правил (регламентов) применения, условий транспортировки, таможенных отношений, мер оказания медицинской помощи при отравлениях и пр.

Таким образом, систематическая проверка потенциальной мутагенности (генотоксичности) пестицидов (действующих веществ и препаративных форм) и их строгая токсиколого-гигиеническая регламентация позволят снизить нагрузку опасными веществами среды обитания человека, способствуя тем самым сохранению здоровья населения страны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ракитский В. Н. ред. Токсиколого-гигиеническая характеристика пестицидов и первая помощь при отравлении. Вып. 1, М. Агрорус, 2011.
2. Санитарные правила и нормативы СанПиН 1.2.2584-10 «Гигиенические требования к безопасности процессов испытаний, хранения, перевозки, реализации, применения, обезвреживания и утилизации пестицидов и агрохимикатов», 2010 г.
3. Potapov A.I., Rakitskii V.N. Pesticide risk assessment for humans. In: International congress on Environmental Health., Hanover, Oct 1-4; 2000, Hanover, Germany, 2000.

4. Ревазова Ю. А. Генотоксическое действие ксенобиотиков. В кн.: Курляндский Б. А., Филлов В. А., ред. Общая токсикология, гл. М.: Медицина; 2002: 385-406.
5. Ракитский В. Н., Чхвиркия Е. Г., Епишина Т.М. Сравнительное биологическое действие двух технических продуктов одного действующего вещества – производного бензотиазинонов. В кн.: Научные труды «Современные проблемы гигиены и эпидемиологии и пути их решения», вып. 20, Воронеж: Истоки; 2008: 19-
6. Чхвиркия Е. Г., Епишина Т. М. Санитарно-токсикологические

исследования действующего вещества, производного сульфанилмочевин. В кн.: Материалы научно-практических конгрессов V Всероссийского форума «Здоровье нации – основа процветания России», раздел «Санитарно-эпидемиологическое благополучие населения Российской Федерации», 16-19 сентября 20М.; 2009, т.1: 79-80.

7. Руководство З 1.2.3156-Оценка токсичности и опасности вещества и их смесей для здоровья человека. М., Роспотребнадзор, 2014.
8. Жанатаев А. К., Никитина В. А., Воронина Е. С., Дурнев А. Д. Методические аспекты оценки ДНК-повреждений

методом ДНК-комет. Прикладная токсикология, 2011; 2(4): 28-37.

9. Ракитский В. Н., Турусов В. С. Мутагенная и канцерогенная активность химических соединений. Вестник РАМН. 2005; 3: 7-9.
10. Турусов В. С., Ракитский В. Н., Ревазова Ю. А. Еще раз о проблеме порога в химическом канцерогенезе. Вопросы онкологии. 1998; 44(4): 468-477.
11. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень). Гигиенические нормативы ГН 1.2.3111-М., 2014.

REFERENCES:

1. Rakitskii V.N. ed. Toxicological and hygienic characteristics of pesticides and first aid for poisoning. Вып.1. М. Агрорус, 2011 (in Russian).
2. Sanitary Norms and Regulations, SanPIN 1.2.2584-10 "Hygienic requirements for safety of processes of testing, storage, transportation, implementation, use, disposal, and utilization of pesticides and agrochemicals", 2010 (in Russian).
3. Potapov A.I., Rakitskii V.N. Pesticide risk assessment for humans. In: International congress on Environmental Health., Hanover, Oct 1-4; 2000, Hanover, Germany, 2000.

4. Revazova Yu.A. Genotoxic effects of xenobiotics In.: Kurlyandskiy B.A., Filov V.A., eds. General toxicology, Ch. Moscow: Medicine; 2002: 385-406 (in Russian).
5. Rakitskii V.N., Chhvirkiya E.G., Epishina T.M. Comparative biological effects of two technical products of the same active substance – benzotiazinone derivative. In: Scientific papers "Modern Problems of Hygiene and Epidemiology and solutions", vol. 20, Voronezh: Istoki; 2008: 19-21 (in Russian).
6. Chhvirkiya E.G., Epishina T.M. Sanitary and toxicological studies of the active ingredient, sulfonylurea

derivative. In: Proceedings of the Congress of V National Forum "Health of the Nation – the basis of Russia's prosperity", Section "Sanitary and epidemiological welfare of the population of the Russian Federation", September 16-19 20Moscow; 2009, vol. 1: 79-80 (in Russian).

7. Guideline R 1.2.3156-Evaluation of toxic and hazardous substances and their mixtures for human health. М., Роспотребнадзор, 2014 (in Russian).
8. Zhanataev A.K., Nikitina V.A., Voronina E.S., Durnev A.D. Methodical aspects of DNA damage assessment by comet assay. Prikladnaya toksikologiya,

2011; 2(4): 28-37 (in Russian).

9. Rakitskii V.N., Turusov V.S. Mutagenic and carcinogenic activity of chemical compounds. Vestnik RAMN. 2005; 3: 7-9 (in Russian).
10. Turusov V.S., Rakitskii V.N., Revazova Yu.A. Once more on the threshold issue in chemical carcinogenesis. Voprosy onkologii. 1998; 44(4): 468-477 (in Russian).
11. Hygienic standards for pesticides in the environment (the list). Hygienic standards GN 1.2.3111-Moscow, 2014 (in Russian).

V.N. Rakitskii, Yu.A. Revazova, N.A. Ilyushina

STRATEGY AND TACTICS OF THE PESTICIDE MUTAGENECITY ASSESSMENT

The Federal Budgetary Science Institution «F.F. Erisman Federal Scientific Centre of Hygiene», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights and Human Well-being (Rospotrebnadzor), 141014 Mytishchi, Moscow Region, Russian Federation

Toxicological and hygienic risk assessment of pesticides widespread use to human health includes the analysis of their mutagenic activity as a compulsory part. A risk assessment strategy of pesticides mutagenic impacts based on their hygiene classification by mutagenicity criterion is presented. Changes in tactical approaches having occurred recently are considered. A set of methods harmonized with international requirements for assessment of mutagenic activity of pesticides, main metabolites and components of their preparative forms is recommended. It allows to determine a hazard class by a given harmful index. Issues are considered in respect to the usage of short-time testing for assessment of generic pesticides mutagenicity, determination of preparative forms potential genotoxicity and forecasting carcinogenic properties of substances under consideration.

Keywords: pesticide, generics, mutagenic activity, assessment strategy.

Материал поступил в редакцию 20.04.2015 г.

УДК 54.06 : 615.21

ВОЛОСЫ КАК ОБЪЕКТ ХИМИКО- ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Ю.В. Слустовская, О.Ю.Стрелова

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения РФ, 197376, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

В последнее время увеличивается интерес судебной и клинической токсикологии к обнаружению наркотических и психотропных веществ в образцах волос. Данный биологический объект расширяет возможности обнаружения наркотических средств и других токсических веществ в организме человека. Главной трудностью исследования волос является правильный подбор условий пробоподготовки объекта химико-токсикологического исследования для более полного извлечения токсикантов из внутренней части волоса. Для этого применяются методы: экстракция органическим растворителем; экстракция органическими растворителями при пониженных температурах; термическое разложение объектов; щелочной или кислотный гидролиз, с последующей жидкость-жидкостной экстракцией смесью растворителей; извлечение метанолом или подкисленным метанолом в ультразвуковой бане; ферментный гидролиз с последующей жидкость-жидкостной экстракцией смесью растворителей.

Ключевые слова: волосы, наркотические средства, психотропные вещества, химико-токсикологический анализ, пробоподготовка, кислотный гидролиз, ферментативный гидролиз, производные барбитуровой кислоты, тропикамид.

Одним из решающих направлений в борьбе с незаконным оборотом наркотиков является проведение судебно-медицинского обследования подозреваемых с целью установления

факта употребления наркотика, результаты которого во многом зависят от химико-токсикологических исследований биологических проб. При этом чрезвычайно важным является

Слустовская Юлия Викторовна (Slustovskaja Julija Viktorovna), аспирант кафедры фармацевтической химии ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения РФ, 197376, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, yulia8356@yandex.ru
Стрелова Ольга Юрьевна (Strelova Olga Jur'evna), кандидат химических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической химии ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения РФ, 197376, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, ous.chim-tox@yandex.ru.

получение данных о продолжительности, периодичности, интенсивности и срока, прошедшего после последнего употребления наркотических средств. Исследование в судебно-химических и химико-токсикологических лабораториях таких классических объектов, как биологические жидкости (моча, кровь и слюна) и внутренние органы трупа (желудок, печень, почки, желчный пузырь с желчью и др.) на присутствие наркотических средств и психотропных веществ обычно даёт отрицательные результаты спустя 1–3 суток после употребления вещества, а в отдельных случаях – спустя неделю или несколько более. При интерпретации полученных результатов не всегда можно ответить на вопрос: является ли такая низкая концентрация следствием однократного употребления малой дозы препарата, или она обусловлена достаточно большим сроком, прошедшим после прекращения его интенсивного приёма. При этом следует учитывать, что отбор повторных образцов часто бывает по разным причинам затруднён или невозможен.

В последнее время увеличивается интерес судебной и клинической токсикологии к обнаружению веществ в образцах волос [1,2,3]. Основными преимуществами исследования волос перед исследованием биожидкостей являются:

- возможность обнаруживать токсиканты в организме человека спустя недели, месяцы или даже годы после окончания их приёма;
- возможность проследить во времени «историю» поступления вещества в организм;
- возможность исследования широкого диапазона концентраций;
- не требуются особые условия для отбора и хранения проб. Волосы могут храниться длительное время в простом бумажном конверте при комнатной температуре [4,5].

В цикле развития волоса, ороговевшего нитевидного эпителиального придатка кожи, выделяют фазу роста с высокой метаболической активностью матрикса продолжительностью от 50 дней до 2 и более лет в зависимости от индивидуальных особенностей организма человека. Переходная фаза роста волоса продолжается 1–2 нед. Мёртвая волосная фолликула остаётся в толще кожи от 1 до 6 мес. и затем выпадает вместе с волосом. Обычно до 85 % всех волос половозрелого человека находится в фазе роста, около 1 % – в переходной фазе и 14 % – мертвы. При определённых заболеваниях или при интоксикациях соотношение фаз метаболизма волос может меняться. Волосы головы вырастают на 0,1–0,5 мм в сут, что за месяц составляет примерно 3–15 мм. Наибольшая скорость роста наблюдается у лиц в возрасте от 15 до 30 лет [2,6,7].

Химический состав волос различен в зависимости от возраста и пола человека. В химической структуре белков волос также имеется большое число функциональных групп, которые могут обеспечивать связывание их с различными веществами, в том числе и лекарственными. Основную массу волос составляют белки, а так же липиды (4–8 %), холестерин (0,1–0,2 %), меланин, микроэлементы и некоторые ферменты, в частности щелочная фосфатаза, влияющая на рост волос. Твёрдый кератин, является основной субстанцией волос. Это белковое вещество богатое серой (около 5 %) и аминокислотами (цистеин около 14 %, лейцин 14 %, глутаминовая кислота 12 %, тирозин 3 %), отличается большой плотностью, плохо растворим в воде, устойчив ко многим химическим веществам, в том числе кислотам и щелочам и содержит значительное количество цистина [2,8].

Сердцевина волос человека состоит из белков, богатых аминокислотой цитруллином, и имеющих ковалентные поперечные связи, которые нельзя объяснить только серными мостиками, так как содержание цистеина и цистина в этих белках слишком низко для этого. Изопептидные мостики обнаруживаются в клетках медуллы и внутренних клетках корней волос. Они отвечают за низкую растворимость этих белков в водных растворах и увеличивают химическую стабильность медуллы [5,8,9].

Меланин – пигмент буровато-черного цвета придаёт природную окраску волосу и способен связываться с большим количеством физиологически активных веществ. Гранулы, извлечённые из чёрных волос, твёрдые и имеют высокую плотность. Их аминокислотный состав значительно отличается от аминокислотного состава окружающей волос и состоит из полимеров индолюхинолиновой структуры [2, 6, 10].

Липиды волос имеют в своем составе полярные группы, в число которых входят ненасыщенные связи, гидроксильные и эфирные группы. В результате воздействия различных механизмов все они могут образовывать связи с наркотиками [2,6,8].

Среди факторов, влияющие на процесс накопления наркотических веществ в волосах выделяют следующие: зависимость общего количества вещества в волосах от принятой дозы; родство исследуемого вещества с химическими компонентами волос, в частности, меланином; липофильность самих веществ, а также комбинации указанных факторов [2,6,8,9].

Исследования динамики накопления наркотических веществ и их метаболитов в волосах позволили разделить наркотические и психотропные вещества на группы: вещества с высокой

способностью к включению в состав волос (кокаин и фенциклидин), вещества, занимающие промежуточное положение (метилендиоксиамфетамин или МДМА, метилендиоксиметамфетамин или МДА), производные лизергиновой кислоты, 6-моноацетилморфин, амфетамин и другие), а также вещества, слабо проникающие в волосы (метаболиты кокаина и амфетамина, морфин и метаболиты каннабиноидов кислотной природы) [12,13].

Многочисленными авторами [2,10,11,13] выявлена общая закономерность влияния меланина на прохождения наркотиков через кожу, а также в накоплении их в различных органах и тканях: наркотические вещества накапливаются в волосах пропорционально содержанию в них меланина, более всего в чёрных, менее в коричневых и ещё менее в белых. Например, A. Mizuno с соавторами (2002) показали на примере никотина и его метаболита котинина, что эти вещества накапливаются в большей степени в чёрных волосах курящих, чем в белых.

S.J. Green и J. Wilson (1996) определяли влияние окраски шерсти крыс на накопление метадона и обнаружили прямую зависимость между принятой дозой и концентрацией наркотика в шерсти, соотношение концентрации метадона в окрашенной шерсти и в неокрашенной равно 21,3 : 1,0. Аналогичные выводы о влиянии меланина на включение наркотиков и других веществ в волосы были сделаны на основании данных об особенностях накопления их в волосах людей различных рас [2].

Изоэлектрическая точка волоса равна 3,67. На мембране, разделяющей кровь и внутреннюю область волоса, существует градиент рН среды. Поэтому вещества, существующие в виде катионов, будут связываться отрицательным зарядом волоса при рН выше, его изоэлектрической точки. При этом сама точка зависит в основном от содержания в волосе меланина и кислых белков [2].

В настоящее время считается, что наркотические средства и психотропные вещества можно обнаружить в волосах лица (бороды) спустя 2–3 дня, в волосах головы спустя 5–7 дней, в моче, слюне и поте от 30 минут до суток после приёма. Многочисленные авторы изучали динамику накопления наркотических средств в волосах, однако данные противоречивы [12,13]. Если систематизировать, то можно сказать: самая высокая средняя концентрация вещества (например, кодеина) в первом сегменте волос, который составляет около 1 см с луковицей, обнаруживалась через 12 часов после окончания приёма вещества. Через 5 недель концентрация вещества увеличилась в 2 раза. В следующем, втором сегменте волос, 3 см над кожей, веще-

ство (кодеин) обнаруживался спустя 1 неделю. В третьем сегменте (оставшийся волос) через 10 недель вещества обнаружены не были.

Были проведены исследования динамики накопления бензодиазепинов с участием 10 добровольцев: 8 женщин и 2 мужчин, с различной пигментацией и состоянием волос [2]. Целью исследования было выяснить возможность обнаружения в волосах флунизепема и его основного метаболита 7-аминофлунизепема, после приема однократной дозы флунизепема. Образцы волос были собраны у добровольцев непосредственно перед введением, а затем на 1, 3, 5, 14, 21, 28 день после начала приема. Метаболит флунизепема был обнаружен после 24 часов у пяти добровольцев и остался в волосах на протяжении всего периода исследования и обнаружился в концентрации ниже предела количественного определения на 14 и 21 дни после начала приема. Другое исследование бензодиазепинов проводили на примере бромазепема и клоназепема: волосы были собраны через 1 месяц после однократного приема. Бромазепем был обнаружен в волосах, клоназепем нет [12].

Основным и наиболее важным в анализе токсикологических веществ является этап изолирования ксенобиотиков из биологического объекта. На этом этапе можно частично или полностью потерять токсическое вещество и не обнаружить его даже при использовании современного высокочувствительного аналитического оборудования. Существующие методы изолирования лекарственных средств, разработанные ранее, не всегда отвечают требованиям современной аналитической токсикологии [1,2,6].

Для установления факта хронического отравления тяжелыми металлами (в частности, ртутью и мышьяком) волосы используются уже длительное время. Все чаще волосы становятся объектом исследования при диагностике длительного профессионального контакта с некоторыми химическими элементами, тяжелыми металлами. Поставленные цели позволяют авторам использовать для извлечения тяжелых металлов и других химических элементов такие жесткие методы изолирования как минерализация (в вариантах от простого сжигания образца волос, до минерализации смесью концентрированных кислот) [14,15]. Применение таких методов для извлечения наркотических средств и психотропных веществ из волос невозможно, так как интересующие нас вещества относятся к органическим соединениям и при минерализации полностью разрушаются.

Главной трудностью исследования волос является правильный подбор условий пробо-

подготовки для более полного извлечения токсикантов из внутренней части волоса. В соответствии со строением волоса и спецификой образцов волос большинство исследователей выделяют несколько стадий пробоподготовки: отмывка образцов, извлечение веществ из образцов волос, очистка полученных извлечений (гидролизатов) [1,4].

Методики очистки волос основываются на том факте, что наркотики, попадающие на поверхность волос из окружающей среды, слабо проникают во внутренние их области, где образуют достаточно лабильные связи с белками. Волосы, по мнению многочисленных исследователей, работающих в области косметологии и наркологии, делятся по степени доступности для проникновения в них органических молекул на три чётко различимые зоны. Первая доступная зона представляет собой поверхность волос, в которую вещество из окружающей среды имеет свободный доступ. Эта область без особых затруднений может быть обработана такими растворителями, как безводный этанол или изопропиловый спирт, и слабо связанные с поверхностью волос наркотики просто смываются данными растворителями. Вторая частично доступная зона располагается во внутренних областях волос и практически не имеет контакта с внешней средой, что предотвращает попадание в неё наркотиков, например, в виде паров. Однако в эту зону могут проникать вещества в виде водных растворов, в частности в виде растворов в поте, попавшие в него из плазмы крови. Вещества вымываются из этой области волос с применением интенсивной и многократной промывки растворителями, приводящими к разбуханию ткани волос, например, воды, метанола, смеси воды и этанола или изопропанола. Вода считается самым лучшим растворителем для отмывки данной области волос. Последняя недоступная зона является самой большой и в нормальных условиях в неё не попадают водные растворы наркотиков. У сильных толстых волос она может занимать до 90 % их структуры. Однако её протяжённость сильно уменьшается при повреждении волос, например, при их окраске или химической завивке, избыточной сушке или выгорании на солнце. Вещества, попавшие в эту зону, не могут быть удалены промывкой водой. Высвобождение наркотика из неё возможно только при разрушении структуры волос [2,13].

Этап отмывки образца волос является важным, так как позволяет очистить объекта от внешних наносных загрязнений (например, табачного дыма), таким образом снизить вероятность ложноположительных

результатов. Некоторые исследователи предлагают следующий вариант отмывки: волосы, разделенные на сегменты, моют шампунем или настаивают в течение 15 минут и ополаскивают деионизированной водой, затем ацетоном или метанолом, просушивают в течение ночи на воздухе или при температуре 60 °С. Е.А. Симонов (2000), R.A.Harrison, S. Fu (2014) предлагают волосы последовательно отмывать 2 мл 0,2 М раствора хлористоводородной кислоты и 2 мл метанола (или этанола), по 10 мин каждым. Операция проводится до полного исчезновения в последнем растворителе следов наркотического средства [2,13]. Измельчение объекта рекомендуется проводить ножницами, растиранием в ступке с песком или с использованием шаровой мельницы [1,2].

Описанные в литературе методы изолирования токсикантов из образцов волос можно разделить на несколько групп: экстракция органическим растворителем; экстракция органическими растворителями при пониженных температурах; термическое разложение объектов; щелочной гидролиз или кислотный гидролиз, с последующей жидкость-жидкостной экстракцией смесью растворителей; извлечение метанолом или подкисленным метанолом в ультразвуковой бане; ферментный гидролиз с последующей жидкость-жидкостной экстракцией смесью растворителей [1,2,8,13].

При проведении экстракции наиболее часто в качестве растворителя используется метанол. Обычно экстракция проводится в закрытой посуде при температуре 37–45 °С и выше в течение длительного времени (18–24 ч). Иногда для ускорения реакцию смесь обрабатывают ультразвуком. Соотношение количества образца и растворителя обычно составляет 1–2 мл метанола на 50 мг объекта. Данный способ экстракции можно считать универсальным, так как практически все основные наркотические вещества, такие как героин, кокаин и их метаболиты, не подвергаются гидролизу, а процент извлечения их достаточно высок. Часть вещества, захваченного при росте волос зёрнами меланина, при данном способе остаётся в связанном виде. Затем проводят твердофазную или жидкость-жидкостную экстракцию в условиях, селективных для целевого токсиканта. Данные методики рекомендуются для обнаружения веществ группы опиатов, тетрагидроканнабинола, кокаина [1,2,13,16]. Для выделения меторфана, амфетаминов можно использовать метанол, подкисленный раствором хлористоводородной кислоты при настаивании с использованием ультразвуковой бани в течение 1 ч, а затем ещё настаивание с подкисленным метанолом в течение ночи [2].

Частным методом изолирования для обнаружения 6-моноацетилморфина (6-МММ), метадона, кокаина является настаивание со смесью метанола и трифторуксусной кислоты (9:1) с использованием ультразвуковой бани в течение 1 ч. Затем настаивают при повышенной температуре в течение ночи, после чего проводят твердофазную экстракцию (ТФЭ). Прямое изолирование метанолом показало более высокую степень и чистоту извлечения аналитов [17].

P. Edder с соавторами (1994) проводили сравнение результатов различных методов изолирования при проведении исследований образцов волос. Выделение опиатов из волос методом сверхкритической экстракции проводили в течение 30 мин смесью CO_2 -метанол-триэтиламин-вода (85 : 6 : 6 : 3). Авторы указывают на быстроту проведения экстракции предложенным методом. Метод пригоден для изолирования 6-МММ, так как он не подвергается разрушению. К недостаткам метода следует отнести высокую стоимость оборудования для проведения экстракции [2].

Процесс жидкостной экстракции не может гарантировать полное извлечение целевого вещества, поскольку эффективность извлечения зависит от ранее описанных физических свойств волос. Подбор растворителей для процедуры экстракции не всегда позволяет существенно повысить эффективность этого процесса. Поэтому предпочтение для извлечения остаточных лекарственных веществ из матрицы волос должно быть отдано более жестким методам расщепления. Одним из таких методов является щелочной гидролиз: соотношение щелочи и обрабатываемого объекта рекомендуется 1—2 мл реактива на 50 мг. После проведения гидролиза реакционная смесь охлаждается, нейтрализуется и очищается. Например, к навеске волос (20-100 мг) добавляли 1 мл 1 М раствора калия гидроксида и выдерживали 40 мин при 50 °С [17].

Целесообразность применения щелочного гидролиза так же показана при исследовании каннабиноидов, амфетаминов, нейролептиков и психостимуляторов, так как это позволяет получить более полные извлечения. Щелочной гидролиз проводится настаивание проб волос с 2,5 М раствором натрия гидроксида при 37 °С в течение ночи. При увеличении температуры реакционной массы, время экспозиции соответственно снижается. После этого устанавливают рН среды 9 и проводят жидкость-жидкостную экстракцию.

Метод кислотного гидролиза используется для извлечения веществ морфиновой группы, бензодиазепинов, антипсихотических средств, кокаина [13,17,18]. Кислотный гидролиз воз-

можно проводить несколькими методами с 5М растворами хлористоводородной или серной кислот при 37 °С в течение ночи или с 1 мл 5М хлористоводородной кислоты 5 мин при 90° С [17,18]. Необходимо учитывать, что жесткие агенты, такие как кислоты или щелочи могут изменить структуру некоторых токсикантов и его метаболитов особенно при нагревании, привести к гидролизу кокаина, героина и других сложных эфиров, амидов и т.п. [2].

Поэтому весьма перспективным является применение ферментативного гидролиза, который предлагает более мягкие условия, хотя и требует больших временных затрат. Использование ультразвукового облучения, которое быстро разрушает клеточную мембрану и обеспечивает прямой контакт между ферментом и цитоплазмой, может сократить процедуру экстракции до 30 мин. [18]. Ряд авторов с этой целью предлагают использовать несколько ферментов, такие как β -глюкуронидаза, арилсульфатазы (glusulase), протеиназы К, протеазы Е, протеазы VIII и биопураза [19,20,21,22,23].

Например, описана следующая методика ферментативного гидролиз: к навеске образцов волос добавляют 1 мл водного раствора (рН 6,5) β -глюкуронидазы, пепсина, трипсина или кератиназы (1:10). Выдерживают 12 ч при 40 °С, затем обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 1 ч. Центрифугируют в течение 5 мин при 14000 об/мин. Водную фазу отделяют и подвергают очистке методом ТФЭ [21].

Проведенные ранее Н.А. Чувиной с соавт. (2013) исследования показали перспективность ферментативного гидролиза крови или плазмы крови с использованием таких ферментов как папаин, трипсин, химотрипсин, химопсин и пепсин [25, 26, 27, 28]. В то же время, методы ферментативного гидролиза для изолирования токсических веществ из волос для целей химико-токсикологических исследований в литературе не описаны.

Особенно это актуально для выделения фенобарбитала – производного барбитуровой кислоты, часто являющегося причиной как острых, так и хронических отравлений на фоне длительного приема при выраженной зависимости от данного препарата. Методики его химико-токсикологического анализа в биологических жидкостях (кровь, моча) и тканях описаны в литературе. Однако информации об исследовании производных барбитуровой кислоты в волосах в литературе очень мало.

Для извлечения производных барбитуровой кислоты из биологических жидкостей применяют методы жидкость-жидкостной экстракция с использованием порядка разных экстрагентов: дихлорметан, гексан, диэтиловый эфир,

толуол, *n*-бутил хлорид, хлороформ или смеси растворителей гексан : этилацетат (6:1), толуол : этилацетат (4:1). Экстракцию проводят 10 мл экстрагента (дробно) при $pH=2$ среды, при добавлении растворов кислот серной, фосфорной или винной. Наиболее полное извлечение показало применение диэтилового эфира или хлороформа (степень экстракции для фенобарбитала составила $29,4 \pm 2,1\%$, для барбитала – $22,1 \pm 0,3\%$) [26]. Экстракция из крови проводится с использованием таких же растворителей, что и для мочи. Кислое значение pH среды достигается путем добавления фосфатного буфера. Объем крови для исследования может варьировать от 1 мл до 7 мл [29].

Для производных барбитуровой кислоты показал свою эффективность метод ТФЭ на патронах марки Oasis HLB, Oasis WCX, Oasis WA. Степень экстракции на патронах марки Oasis HLB для фенобарбитала составила $53,2 \pm 0,8$, для барбитала – $42,9 \pm 1,6$; на патронах марки Oasis MAX для фенобарбитала $61,7 \pm 4,8$, для барбитала $56,5 \pm 3,5$ [27]. В литературе описаны методики использования патронов для ТФЭ следующих производителей: Variant (Bond-Elut Certify II), Waters (Sep-Pak) и International Sorbent Technology (isolut Confirm HCX) [29].

Н.А. Чувиной с соавт. (2013) показано, что наилучшие результаты экстракции барбитуратов из крови были получены при использовании фермента трипсина; для фенобарбитала степень экстракции составила $62,1 \pm 3,9\%$, для барбитала $75,1 \pm 3,8\%$. Идентификацию барбитуратов в извлечении из биологических объектов проводили методом газовой хроматографии, для более точной идентификации использовать масс-селективный детектор. Использованы следующие условия: газовый хроматограф Agilent Technologies 6890 N с автоинжектором 7683 и масс-селективным детектором 5973 N. Условия хроматографирования: капиллярная колонка с внутренним диаметром 0,25 мм и длиной 30 м (HP5MS), газ-носитель гелий, скорость потока – 1 мл/мин, температура инжектора 260°C , интерфейса 290°C , температура колонки программируется от 130°C до 290°C со скоростью $20^\circ/\text{мин}$, масс-селективный детектор с температурой источника 230°C , масс-квадрупольный анализатор, энергия ионизации 70 эВ. На хроматограмме отмечался один пик анализируемого вещества, с характерным масс-спектром, совпадающим с данными библиотеки прибора. Количественное определение барбитуратов авторы проводили методом ВЭЖХ, на приборе «Waters 2695» с колонкой Nova Pak C18 4 мкм $3,9 \times 150$ мм. Концентрация лекарственных веществ в растворе составляла 400 мкг/мл. Условия хроматогра-

фирования были следующие: элюент смесь воды деионизованной и ацетонитрила сорта 0 (60:40); изократический режим; скорость элюирования 100 мкл/мин; температура колонок 30°C ; дозирование 10 мкл; детектирование при 220 нм. Расчет выполняли с использованием калибровочного графика зависимости концентрации вещества от площади пика анализируемого вещества [28].

В последние 2–3 года появилось и стало резко возрастать злоупотребление лекарственными средствами из группы холиноблокаторов, циклопентолатом (цикломед) и тропикамидом, которые применяются в офтальмологии в виде капель для расширения зрачка [31, 32]. В состоянии интоксикации появлялось ощущение легкости в теле, «трудно держаться на ногах», нарушение тактильной чувствительности, частое мочеиспускание, отмечались беспокойство, сухость во рту, сухость и шероховатость кожи. В ряде случаев после введения героина вместе с тропикамидом у больных наблюдались истинные зрительные и слуховые галлюцинации. Следует отметить быстрый рост толерантности к тропикамиду, в основном за счет увеличения кратности введения препарата. Пациенты, употребляющие тропикамид в сочетании с амфетаминами, обычно присоединяли данный холиноблокатор на 2–3-й год наркотизации. Как и при сочетанном употреблении тропикамида с героином, отмечалось усиление действия психостимуляторов [31].

При целенаправленном исследовании биожидкости на присутствие тропикамида применяют метод прямой экстракции хлороформом или смесью хлороформ : бутанол (6 : 1) при $pH=7-8$ среда или смесью хлороформ : изопропиловый спирт (9 : 1) при $pH=6$ среды (степень экстракции 95%) [33,34]. При подозрении на факт употребления тропикамида совместно с другими веществами рекомендуется проводить экстракцию смесью хлороформ: изопропиловый спирт (9 : 1) или хлороформ : бутанол (6 : 1) при $pH=9-10$. Из внутренних органов предлагается проводить изолирование по методу Карташова, нейтральным ацетоном с последующей жидкость-жидкостной экстракцией хлороформом из щелочной среды ($pH=8$) [34,35].

Газохроматографическое определение тропикамида проводили на приборе «Кристаллюкс-4000М» с пламенно-ионизационным детектором, на капиллярной кварцевой колонке ZB-5 ($30 \text{ м} \times 0,25 \text{ мм}$). Температура детектора и испарителя 250°C , температура колонки 240°C [37]. Также была разработана методика идентификации тропикамида в извлечении из биологического материала методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором без

дериватизации на приборе Agilent 5860A/5973 с капиллярной кварцевой колонкой HP-5MS (30 м*0,25 мм); режим хроматографирования: скорость газа-носителя 1,2 мл/мин, температура инжектора 250 °С, интерфейса 280 °С, температура колонки: режим «программирования температуры» с 70 °С до 280 °С со скоростью 20 °С. Идентификацию осуществляли по сравнению масс-спектра тропикамида со стандартными спектрами библиотек [37].

Заключение. Таким образом, анализ данных литературы позволяет заключить, что волосы являются весьма перспективным объектом химико-токсикологического исследования с целью установления фактов и длительности контактов с наркотическими и психотропными веществами. Для изолирования токсикантов применяются методы кислотного, щелочного

гидролиза, однако ферментативный гидролиз с использованием протеолитических ферментов имеет ряд преимуществ, так как позволяет выделить легкогидролизуемые в других условиях токсиканты и их метаболиты. Идентификацию и количественное определение следует проводить такими высокочувствительными методами как газовой хроматографии с масс-селективным детектором и высокоэффективной жидкостной хроматографии. В литературе представлены многочисленные методики идентификации и количественного определения производных барбитуровой кислоты (например, фенобарбитала) и тропикамида в биологических жидкостях или тканях, однако отсутствуют данные о динамике накопления в волосах и методики их изолирования из указанного объекта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Савчук С.А., Изотов Б.Н. Идентификация наркотических и психоактивных веществ в биологических жидкостях и волосах методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием. Информационное письмо. М.: ФБУ ННЦ Наркологии; 2014.
2. Симонов Е.А., Изотов Б.Н., Фесенко А.В. Наркотики: методы анализа на коже, в её придатках и выделениях. М.: Анахарсис; 2000.
3. Калетина Н.И., ред. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
4. Dominguez-Romero J.C., Garcia-Reyes J.F., Molina-Diaz A. Screening and quantitation of multiclass drugs of abuse and pharmaceuticals in hair by fast liquid chromatography electrospray time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2011; 879: 2034-2042.
5. Pragt F., Balikova M.A. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clinica Chimica Acta*. 2006; 370 (1): 17-49.
6. Guidelines for testing drugs under international control in hair, sweat and saliva. United nations international drug control programme. NY; 2001; Available at: <http://www.unodc.org/unodc/en/scientists/publications-drug-testing-laboratories.html>
7. Kintz P., ed. Analytical and practical aspects of drug testing in hair. USA.: Taylor & Francis Group; 2007.
8. Voumba V. A., Ziavrou K. S., Vougiouklakis T. Hair as a Biological Indicator of Drug Use, Drug Abuse or Chronic Exposure to Environmental Toxicants. *International Journal of Toxicology*. 2006; 25(143): 143-163.
9. Horvath A.L. Solubility of Structurally Complicated Materials: 3. Hair. *The Scientific World Journal*. 2009; 9: 255-271.
10. Takayama N., Tanaka S., Kizu R., Hayakawa K. HPLC: Chemiluminescence detection of methamphetamine and amphetamine in black and white hair samples. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1998; 44(2): 116-121.
11. Jou C.J.G., Chen Y.S., Wang H.P., Lin K.S., Tai H.S. Hydrolytic dissociation of hog-hair by microwave radiation. *Bioresource Technology*. 1999; 70: 111-113.
12. Balikova M. Hair analysis for drugs of abuse. Plausibility of interpretation. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2005; 149(2): 199-207.
13. Harrison R.A., Fu S. Review of methodology for testing hair for cocaine. *Journal of Forensic Investigation*. 2014; 2(1): 1-7.
14. Власенко М.А. Элементный статус, показатели свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы у сотрудников Федеральной противопожарной службы МЧС России с заболеваниями органов пищеварения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб.; 2012.
15. Хамидулина Х.Х., Давыдова Ю.О., Рабикова Д.Н. Современные проблемы регулирования свинца и его соединений. В кн.: Материалы пленума научного совета по экологии человека и гигиены окружающей среды Российской Федерации. М.; 2012: 460-463.
16. Strano-Rossi S., Chiarotti M. Solid-phase microextraction for cannabinoids analysis in yair and its possible application to other drugs. *Journal of analytical toxicology*. 1999; 23: 7-10.
17. Савчук С.А., Никитина Н.М., Зулаева А.С., Несмеянова Н.И., Константинова С.Д. Применение методов ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС для определения наркотических веществ в волосах. *Наркология*. 2012; 10 (17): 72-79.
18. Савчук С.А. Обнаружение синтетических каннабимиметиков, наркотических, психоактивных веществ и их метаболитов в моче, волосах и ногтях методами жидкостей хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Информационное письмо. М.: ФБУ ННЦ Наркологии; 2014.
19. Yegles M. Detection of benzodiazepines and other psychotropic drugs in human hair by GC/MS. *Journal of Forensic Science International*. 1997; 84: 211-218.
20. Eser H.P. Influence of sample preparation on analytical results: drug analysis (GC/MS) on hair snippets versus hair powder using various extraction methods. *Journal of Forensic Science International*. 1997; 84: 271-279.
21. Moeller M.R. Cocaine and its metabolites, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester, in hair. *Journal of Analytical Toxicology*. 1992; 16: 291-296.
22. Baumgartner W.A. Hair analysis method. Patent US, N 6949344; 2005 (in USA).
23. Baumgartner W.A. Detection of marijuana intake in humans; obtain hair sample, digest, incubate with binding agent, filter protease and impurities, evaluate for marijuana use. Patent US, N 6582924; 2003 (in USA).
24. Чувина Н.А. Изолирование лекарственных средств из плазмы крови с применением протеолитических ферментов: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. СПб.; 2013.
25. Чувина Н.А., Стрелова О.Ю., Ку克林 В.Н. Применение ферментативного гидролиза для изолирования токсических веществ различных химических групп из биологической жидкости (крови, плазмы) с целью химико-токсикологического анализа. *Вестник Российской Военной медицинской академии им. Кирова*. 2011; 1(33): 154-155.
26. Чувина Н.А., Стрелова О.Ю., Колупаева А.С., Заблоцкая И.В. Использование метода ферментативного гидролиза для изолирования производных барбитуровой кислоты из крови на примере фенобарбитала и барбитала. Судебно-медицинская экспертиза. 2010; 5: 19-21.
27. Чувина Н.А., Стрелова О.Ю., Ку克林 В.Н. Изолирование лекарственных веществ из плазмы крови методом твердофазной экстракции. *Бутлеровские сообщения*. 2013; 33(1): 35-42.
28. Чувина Н.А., Стрелова О.Ю., Ку克林 В.Н. Ферментативный гидролиз плазмы крови как метод химико-токсикологического анализа, используемый для изолирования токсических веществ. *Токсикологический вестник*. 2013; 1: 31-35.
29. Recommended method for the detection and assay of barbiturates and benzodiazepines in biological specimens. United nations international drug control programme. NY; 1997. Available at: <http://www.unodc.org/unodc/en/scientists/recommended-methods-for-the-identification-and-analysis-of-barbiturates-and-benzodiazepines-under-international-control.html>
30. Хабриева Р.У., Калетина Н.И., ред. Токсикологическая химия: аналитическая токсикология: учебное пособие. М.: Гэотар-Медиа; 2010.
31. Рохлина М.Л., Богинская Д.Д., Усманова Н.Н., Мохначев С.О. Злоупотребление производными лекарственных препаратов. *Наркология*. 2012; 11(2): 44-49.
32. Тумилович Е. Ю. Разработка методик определения дицикловерина гидрохлорид и тропикамида для целей химико-токсикологических исследований: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пермь; 2012.
33. Банникова Г. А., Лаврентьева А.В., Мелентьев А.Б. Определение тропикамида в крови для судебной и клинической токсикологии. Проблемы экспертизы в медицине. 2011; 11(1-2): 16-18.
34. Мансуров Р.Г., Артемьева И.А., Попова В.В., Хабиева Н.А. Изолирование, идентификация, количественное определение тропикамида. Актуальные вопросы судебной медицины и права. Казань, 2011; Available at: <http://journal.forens-lit.ru/node/340>
35. Федосеева Л.М., Даутова Д.Д., Кнауб Н.Н., Воронкова Л.Г., Кюдрян В.А. Химико-токсикологическое исследование тропикамида. Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики. Барнаул-Новосибирск, 2011; Available at: <http://journal.forens-lit.ru/node/491>
36. Панова Е.П., Владимирова О.В., Куриленко М.И., Драгина Л.П. Судебно-химическое определение тропикамида. Актуальные вопросы судебной медицины, медицинского права и биоэтики, Самара, 2011. Available at: <http://journal.forens-lit.ru/node/666>
37. Бушув Е.С., Горбачева Т.В., Бычков В.А. Тропикамид как объект химико-токсикологического анализа. Справочно-информационное пособие. СПб., 2013.

REFERENCES:

1. Savchuk S.A., Izotov B.N. Identification of drugs and psychoactive substances in biological fluids and hair using gas chromatography with mass selective detection. Informacionnoe pis'mo, Moscow: FBGU NNC Narkologii; 2014 (in Russian).
2. Simonov E.A., Izotov B.N., Fesenko A.V. Drugs: methods of analysis in the skin, its appendages and secretions. Moscow: Anaharsis; 2000 (in Russian).
3. Kaletina N.I., ed. Toxicological Chemistry. Metabolism and analysis of toxicants. Uchebnoe posobie. Moscow: GJeOTAR-Media; 2008 (in Russian).
4. Dominguez-Romero J.C., Garcia-Reyes J.F., Molina-Diaz A. Screening and quantitation of multiclass drugs of abuse and pharmaceuticals in hair by fast liquid chromatography electrospray time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography B. 2011; 879: 2034-2042.
5. Pragst F., Balikova M.A. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. Clinica Chimica Acta. 2006; 370 (1): 17-49.
6. Guidelines for testing drugs under international control in hair, sweat and saliva. United nations international drug control programme. NY; 2001. Available at: <http://www.unodc.org/unodc/en/scientists/publications-drug-testing-laboratories.html>
7. Kintz P., ed. Analytical and practical aspects of drug testing in hair. USA: Taylor & Francis Group; 2007.
8. Boumba V. A., Zivrou K. S., Vougiouklakis T. Hair as a Biological Indicator of Drug Use, Drug Abuse or Chronic Exposure to Environmental Toxicants. International Journal of Toxicology. 2006; 25(143): 143-163.
9. Horvath A.L. Solubility of Structurally Complicated Materials: 3. Hair. The Scientific World Journal. 2009; 9: 255-271.
10. Takayama N., Tanaka S., Kizu R., Hayakawa K. HPLC:Chemiluminescence detection of methamphetamine and amphetamine in black and white hair samples. Japanese journal of toxicology and environmental health. 1998; 44(2): 116-121.
11. Jou C.J.G., Chen Y.S., Wang H.P., Lin K.S., Tai H.S. Hydrolytic dissociation of hog-hair by microwave radiation. Bioresource Technology. 1999; 70: 111-113.
12. Balikova M. Hair analysis for drugs of abuse. Plausibility of interpretation. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2005; 149 (2): 199-207.
13. Harrison R.A., Fu S. Review of methodology for testing hair for cocaine. Journal of Forensic Investigation. 2014; 2(1): 1-7.
14. Vlasenko M.A. Element status, indicators of free radical oxidation and antioxidant system in employees of the Federal Fire Service of Emergency of Russia with digestive diseases. Dr. biol. sci. diss. Saint-Petersburg; 2012 (in Russian).
15. Khamidulina H.H., Davydov J.O., Rabikova D.N. Modern problems of regulation of lead and its compounds. Proc.: Materials Plenum Scientific Council for Human Ecology and Environmental Health of the Russian Federation. M.; 2012: 460-463 (in Russian).
16. Strano-Rossi S., Chiarotti M. Solid-phase microextraction for cannabinoids analysis in hair and its possible application to other drugs. Journal of analytical toxicology. 1999; 23: 7-10.
17. Savchuk S.A., Nikitina N.M., Zulaeva A.S., Nesmejanova N.I., Konstantinova S.D. Application methods GC-MS and HPLC-MS / MS to determine the drug in the hair. Narkologija. 2012; 10 (17): 72-79 (in Russian).
18. Savchuk S.A. Detection of synthetic cannabinimimetics, drugs, psychoactive substances and their metabolites in the urine, hair and nails liquid chromatography method with mass spectrometric detection. Informacionnoe pis'mo, Moscow: FBGU NNC Narkologii; 2014 (in Russian).
19. Yegles M. Detection of benzodiazepines and other psychotropic drugs in human hair by GC/MS. Journal of Forensic Science International. 1997; 84: 211-218.
20. Eser H.P. Influence of sample preparation on analytical results: drug analysis (GC/MS) on hair snippets versus hair powder using various extraction methods. Journal of Forensic Science International. 1997; 84: 271-279.
21. Moeller M.R. Cocaine and its metabolites, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester, in hair. Journal of Analytical Toxicology. 1992; 16: 291 - 296.
22. Baumgartner W.A. Hair analysis method. Patent US, N 6949344; 2005 (in USA). Baumgartner W.A. Detection of marijuana intake in humans; obtain hair sample, digest, incubate with binding agent, filter protease and impurities, evaluate for marijuana use. Patent US, N 6582924; 2003 (in USA).
23. Baumgartner W.A. Detection of marijuana intake in humans; obtain hair sample, digest, incubate with binding agent, filter protease and impurities, evaluate for marijuana use. Patent US, N 6582924; 2003 (in USA).
24. Chuvina N.A. Isolation of drugs from blood plasma using proteolytic enzymes. Dr. pharm. sci. diss. Saint-Petersburg; 2013 (in Russian).
25. Chuvina N.A., Strelova O.Ju., Kuklin V.N. Application of enzymatic hydrolysis to isolate toxic substances of various chemical groups from the biological fluids (blood, plasma) to chemical-toxicological analysis. Vestnik Rossijskoj Voennoj medicinskoj akademii im. Kirova. 2011; 1(33): 154-155 (in Russian).
26. Chuvina N.A., Strelova O.Ju., Kolupaeva A.S., Zablokaja I.V. The use of enzymatic hydrolysis to isolate derivatives of barbituric acid from the blood (for example, phenobarbital and barbamil). Sudebno-medicinskaja jekspertiza. 2010; 5: 19-21 (in Russian).
27. Chuvina N.A., Strelova O.Ju., Kuklin V.N. Isolation of drugs from blood plasma by solid phase extraction. Butlerovskie soobshhenija. 2013; 33(1): 35-42 (in Russian).
28. Chuvina N.A., Strelova O.Ju., Kuklin V.N. Enzymatic hydrolysis of plasma as a method of chemical-toxicological analysis is used to isolate the toxic substances. Toksikologicheskij vestnik. 2013; 1: 31-35 (in Russian).
29. Recommended method for the detection and assay of barbiturates and benzodiazepines in biological specimens. United nations international drug control programme. NY; 1997. Available at: <http://www.unodc.org/unodc/en/scientists/recommended-methods-for-the-identification-and-analysis-of-barbiturates-and-benzodiazepines-under-international-control.html>
30. Habrieva R.U., Kaletina N.I., ed. Toxicological chemistry: analytical toxicology: a tutorial. Moscow: Gjeotar-Media; 2010 (in Russian).
31. Rohlina M.L., Boginskaja D.D., Usmanova N.N., Mohnachev S.O. Abuse derived drugs. Narkologija. 2012; 11(2): 44-49 (in Russian).
32. Tumilovich E. Ju. Development of methods for determining dicycloverin hydrochloride and tropicamide for chemical-toxicological studies. Dr. pharm. sci. diss. Perm'; 2012 (in Russian).
33. Bannikova G. A., Lavrent'eva A.V., Mele'tev A.B. Determination of tropicamide in the blood for forensic and clinical toxicology. Problemy jekspertizy v medicine. 2011; 11(1-2): 16-18 (in Russian).
34. Mansurov R.G., Artem'eva I.A., Popkova V.V., Habieva N.A. Isolation, identification, quantification of tropicamide. Aktual'nye voprosy sudebnoj mediciny i prava. 2011, 11. Available at: <http://journal.forens-lit.ru/node/340> (Accessed 08 October 2011).
35. Fedoseeva L.M., Dautova D.D., Knaub N.N., Voronkova L.G., Kodrjan V.A. Chemical-toxicological research of tropicamide. Aktual'nye voprosy sudebnoj mediciny i prava. 2011, 17. Available at: <http://journal.forens-lit.ru/node/491> (Accessed 12 November 2011).
36. Panova E.P., Vladimirova O.V., Kurilenko M.I., Dragina L.P. Forensic chemical determination of tropicamide. Aktual'nye voprosy sudebnoj mediciny i prava. 2011. Available at: <http://journal.forens-lit.ru/node/666> (Accessed 30 March 2012).
37. Bushuev E.S., Gorbacheva T.V., Bychkov V.A. Tropicamide as an object of chemical-toxicological analysis, Saint-Petersburg: Spravochno-informacionnoe posobie; 2013 (in Russian).

Ju.V. Slustovskaia, O. Ju. Strelova

HAIR AS OBJECT OF CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL ANALYSIS

St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, 197376, St. Petersburg, Russian Federation

Lately there is an increasing interest in forensic and clinical toxicology to detect drugs and psychotropic substances in hair samples. This biological object extends opportunity to detect drugs and other toxic substances in the human body. The main difficulty in investigating the hair is a correct selection of sample preparation conditions of the object subject to chemical and toxicological studies in order to obtain a more complete extraction of toxins from the inside of the hair. For this purpose the following methods are applied: organic solvent-based extraction; organic solvent-based extraction at lower temperatures; thermal decomposition of objects; alkaline or acidic hydrolysis followed by mixed solvents-based liquid-liquid extraction; methanol-based extraction or acidified methanol-based extraction in an ultrasonic bath; enzymatic hydrolysis followed by mixed solvents-based liquid-liquid extraction.

Keywords: hair; drugs; psychotropic substances; chemical and toxicological analysis; sample preparation; acid hydrolysis; enzymatic hydrolysis, barbituric acid derivatives, tropicamide.

Переработанный материал поступил в редакцию 29.04.2015 г.

УДК 615.25

НЕФРОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИИ ТАУРИНА С ЦИНКА ДИАСПАРТАТОМ ПРИ ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИИ У КРЫС

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

УО «Гродненский государственный
медицинский университет» МЗ РБ, кафедра
фармакологии им. профессора
М.В. Кораблева; кафедра гистологии,
цитологии и эмбриологии, 230005, г. Гродно,
Беларусь

Комбинация таурина с цинка диаспартафом при соотношении компонентов соответственно: 1,0 г + 0,14 г – 250 мг/кг и, особенно, 1,0 г + 0,06 г – 500 мг/кг, вводимых в желудок в течение 10 дней у крыс с гентамициновой (внутрибрюшинно, 60 мг/кг/день x 10) нефропатией обладает нефрозащитным действием. Это подтверждается ослаблением повреждения проксимальных извитых канальцев корковых нефронов.

Ключевые слова: крысы, гентамициновая нефропатия, комбинация таурина с цинка диаспартафом, нефрозащитное действие.

Введение. Широкое применение высокоэффективных аминогликозидных антибиотиков в значительной степени сдерживается развитием поражения почек (у каждого 4-5 пациента) [1]. Несмотря на значительные усилия исследователей, направленные на разработку лекарственных средств профилактики и терапии аминогликозидной нефропатии, современная клиническая медицина не располагает ими.

Ранее нами показано, что комбинация таурина с цинка диаспартафом (тауцин) в значительной степени улучшает метаболизм в почках и функцию органа [2]. В настоящей исследовании предпринята попытка оценить возможное цитопротекторное действие комбинации аминокислоты таурина с органической солью цинка (цинка диаспартаф) при этой патологии.

Материалы и методы исследования. Опыты проведены на 48 беспородных крысах-сам-

ках массой 150 – 200 г в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными. Гентамицин (производитель – РУП «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь) вводили внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг/день в течение 10 дней. Комбинацию таурина с цинка диаспартафом составляли по принципу: 1 г/моль цинка диаспартата (0,348 г) с различными г/молярными соотношениями таурина: 5 (0,625 г) – тауцин-5; 10 (1,25 г) – тауцин-10; 20 (2,50 г) – тауцин-20 и 50 (6,25 г) – тауцин-50. При этом вводимое количество металла составляло от 1 до 3 суточных потребностей крыс в нем [3]. Комбинации веществ вводили в желудок в виде взвеси в слизи крахмала в дозах 500 (тауцин-50) и 250 мг/кг (другие соотношения компонентов), 1 раз в день, 10 дней. Через 24 часа после последнего введения веществ животных под-

Басалай Ольга Николаевна (Basalai Olga Nikolaevna), аспирант кафедры фармакологии им. проф. М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, basalai2012@mail.ru

Михальчук Елена Чеславовна (Mikhailchuk Elena Cheslavovna), к.б.н., доцент каф. гистологии, цитологии и эмбриологии УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, milena6519@mail.ru

Зиматкин Сергей Михайлович (Zimatkin Sergey Mikhaylovich), д.б.н., профессор, зав. каф. гистологии, цитологии и эмбриологии УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, zimatkin@grsmu.by

Бушма Михаил Иванович (Bushma Mikhail Ivanovich), д.м.н., профессор кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, pharma@grsmu.by

Борисенюк Ольга Александровна (Borisenok Olga Aleksandrovna), к.м.н., ст. преподаватель кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, pharma@grsmu.by

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.).

вергали эвтаназии и извлекали левую почку.

О характере и степени аминогликозидной нефропатии судили по данным морфологических и морфометрических исследований гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином [4]. Морфометрические и цитофотометрические исследования проводили с использованием компьютерного анализа изображений «Bioscan NT 2.0», микроскопа (Carl Zeiss Jana) и цифровой видеокамеры (Panasonic Colour CCTV Camera WV, CP 40/G).

Количественную оценку результатов, полученных в обеих сериях, проводили методом непараметрической статистики Манна-Уитни, применяя поправку Бонферрони с использованием пакета программ «Statistica» 6.0.437.0 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897 [5].

Результаты и обсуждение. Гентамицин оказывает нефротоксическое действие, проявляющееся преимущественным поражением проксимальных извитых канальцев корковых нефронов (табл.), что согласуется с литературными данными [6].

Основные физиологические параметры (поведение, потребление корма и воды, прирост массы тела) крыс, получавших тауцин, не отличались от таковых у животных, получавших только гентамицин.

Тауцин-10 и, в меньшей степени, тауцин-5 оказывают слабовыраженное нефрозащитное действие, поэтому результаты в таблице не представлены.

Тауцин-20 обладает более выраженным нефрозащитным действием. Патологические изменения в почечных тельцах (увеличение их наружного и внутреннего диаметров) сохраняются. Количество проксимальных извитых канальцев корковых нефронов 1 и 2 типов увеличивается за счет снижения – 3, а процент канальцев, заполненных клеточным детритом, – уменьшается (на 47%). Их внутренний диаметр также снижается на 50%, в то время, как высота выстилающих эпителиоцитов – возрастает на 35% (табл.). Степень поражения почечных телец юкстамедуллярных нефронов незначительная и соответствует таковой в контроле. Проксимальные извитые канальцы этих нефронов поражены в меньшей степени (количество неповрежденных – возрастает на 12%, а поврежденных – снижается на 24%).

Тауцин-50 обладает более выраженным нефрозащитным действием. Под его влиянием в почечных тельцах корковых нефронов редко встречаются изменения структурных компонентов сосудистых клубочков. Коли-

чество проксимальных извитых канальцев корковых нефронов 1 и 2 типов превышает значения контрольных крыс в 8,9 и 1,7 раз соответственно. Снижается процент канальцев с большей степенью повреждения (4 тип) – на 69%. Количество канальцев, заполненных детритом, уменьшается на 55%. Наружный и внутренний диаметры проксимальных извитых канальцев корковых нефронов снижаются, соответственно на 32 и 82%, а высота выстилающих их эпителиоцитов – повышается на 58% (табл.). Поражение почечных телец юкстамедуллярных нефронов сохраняется. Количество неповрежденных проксимальных извитых канальцев этих нефронов повышается на 34%, а поврежденных – снижается на 70%.

Основной мишенью цитотоксического действия гентамицина являются проксимальные извитые канальцы корковых нефронов. Пусковую роль играет снижение метаболизма фосфолипидов в лизосомах. В последующем ингибируется функция митохондрий с генерацией цитотоксичных радикалов кислорода [7]. В финальной стадии патологии отторгается щеточная каемка эпителия, выстилающего проксимальные извитые канальцы корковых нефронов (клеточный детрит). Она закупоривает нижележащие канальцы с меньшим просветом с развитием «внутриканальцевого гидронефроза». Это приводит к увеличению наружного и внутреннего диаметров канальцев и сдавлению клеток, о чем свидетельствует снижение высоты эпителиоцитов. Менее выраженное повреждение юкстамедуллярных нефронов, по-видимому, обусловлено их меньшей ролью в мочеобразовании в связи с преимущественной специализацией в секреции ренина [8].

Комбинация таурина с цинка диглутаматом (тауцин, 250 мг/кг) обладает нефрозащитными свойствами, усиливающимися по мере увеличения в ней относительного содержания таурина (тауцин-20 > тауцин-10 > тауцин-5). Тауцин-50 обладает еще более выраженным цитопротекторным действием. Что вносит вклад в усиление цитопротекции (относительное увеличение доли таурина или общей дозы компонентов с 250 до 500 мг/кг) остается не ясным.

Предполагается, что эффективность комбинации обусловлена свойствами входящих в ее состав компонентов. Таурин – антиоксидант, стабилизатор биомембран, осморегулятор [9, 10]. Цинк – кофактор супероксиддисмутазы, являющихся ферментами антиоксидантной защиты. Кроме того, он входит в состав более 200

Таблица

Степень повреждения проксимальных извитых канальцев корковых нефронов крыс с гентамициновой (внутрибрюшинно, 60 мг/кг/день – 10 доз) нефропатией и цитопротекторное действие тауцина (в желудок – 10 доз)

Проксимальные извитые канальцы корковых нефронов	Условия опыта			
	Контроль	Гентамицин	Гентамицин + тауцин-20, 250 мг/кг/день	Гентамицин + тауцин-50, 500 мг/кг/день
1 тип – без повреждения эпителия (%),	95,0 (94,0;96,0)	4,0 (3,0; 5,0) 0,004 -	9,0 (7,0; 11,0) 0,004 0,002	35,5 (28,5; 38,0) 0,001 0,008
2 тип – деструкция только апи-кальных отделов эпителия (%)	5,0 (4,0; 6,0)	18,0 (17,0; 19,0) 0,004 -	28,0 (18,0; 38,0) 0,004 0,08	30,0 (29,5; 37,5) 0,001 0,0008
3 тип – деструкция более ½ высоты эпителия (%)	0,0 (0)	28,5 (24,0; 31,0) 0,003 -	24,0 (20,0; 32,0) 0,003 0,5	19,0 (14,0; 23,5) 0,007 0,02
4 тип – полное разрушение эпителия с сохранением базальной мембраны (%)	0,0 (0)	49,5 (45,0; 53,0) 0,003 -	39,0 (30,0; 42,0) 0,003 0,01	15,5 (9,5; 19,5) 0,007 0,008
Заполненные детритом (%)	0,0 (0)	40,0 (38,0; 43,0) 0,0002 -	21,0 (18,0; 28,0) 0,0002 0,0002	18,0 (13,0; 25,0) 0,0001 0,0002
Наружный диаметр (мкм)	27,48 (21,9; 30,7)	39,3 (30,4; 49,8) 0,009 -	32,3 (30,5; 38,6) 0,05 0,06	30,62 (23,2; 41,4) 0,016 0,009
Внутренний диаметр (мкм)	1,67 (0,1; 6,3)	23,0 (14,3; 32,6) 0,0001 -	11,4 (6,5; 22,3) 0,0001 0,0007	4,2 (0,2; 20,4) 0,2 0,0005
Высота эпителиоцитов (мкм)	11,9 (10,3; 14,1)	8,1 (6,6; 9,4) 0,0002 -	10,9 (8,2; 12,3) 0,3 0,0008	12,8 (10,5; 15,5) 0,3 0,002

Примечания: первая строка цифр – значения Me. Вторая (в скобках) – 25% и 75% квартилей. Третья и четвертая строки – значения p: третья – в сравнении с контрольными, четвертая – с получавшими гентамицин крысами. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые величины p (с учетом поправки Бонферрони).

ферментов, контролируемых ключевые стадии внутриклеточного метаболизма. Это обеспечивает рост, деление клеток и регенерацию тканей [11]. Преимуществом органической соли цинка над неорганической являются его большая биодоступность и фиксация в тканях.

Заключение. Комбинация таурина с цинка диаспаратом (тауцин-50, 500 мг/кг > тауцин-20 > тауцин-10 > тауцин-5, все по 250 мг/кг) в значительной степени ослабляет повреждение проксимальных извитых канальцев корковых нефронов, вызываемых гентамицином.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стречунский Л.С. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. Москва: Боргес; 2002.
2. Басалай О.Н., Михальчук Е.Ч., Зиматкин С.М., Бушма М.И. Коррекция комбинацией таурина с цинка диаспаратом нарушение метаболизма в почках и функции органа у крыс с гентамициновой нефропатией. Токсикологический вестник. 2014; 127 (4): 25-29.

3. W. Maret. Molecular aspects of human cellular zinc homeostasis: redox control of zinc potentials and zinc signals. *Biometals*. 2009; 22: 149-157.
4. Можейко Л.А. Классические методы окраски в гистологии. Гродно: ГрГМУ; 2010.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: МедиаСфера; 2002.

6. Beauchamp D. et al. Attenuation of gentamicin induced nephrotoxicity in rats by feroxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 1237-1245.
7. Houghton D.C. et al. A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am. J. Pathol.* 1976; 82: 589-12.
8. Быков В. Л. Частная гистология человека (краткий обзорный курс), 2-е изд. СПб: СОТИС; 1997.
9. Шейбак В.М., Шейбак Л.Н. Биологи-

ческая роль таурина в организме млекопитающих. *Медицинские новости*. 2005; 10: 65-15.
10. Шейбак В. М., Шейбак Л. Н. Биосинтез и обмен таурина. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2005; 1: 9-12.
11. Шейбак В. М., Шейбак Л. Н. Биологическая роль цинка и перспективы медицинского применения цинк-содержащих препаратов. Гродно: ГрГМУ; 2003.

REFERENCES:

1. Strachunskiy L.S. Modern antimicrobial chemotherapy. Moskva: Borges; 2002 (in Russian).
2. Basalay O.N., Mikhal'chuk E.Ch., Zimatkin S.M., Bushma M.I. Correction combination of taurine and zinc diaspартатом metabolic disorder in the kidney and organ function in rats with gentamicin nephropathy. *Toxikologicheskii vestnik*. 2014; 127 (4): 25-29 (in Russian).
3. W. Maret. Molecular aspects of

human cellular zinc homeostasis: redox control of zinc potentials and zinc signals. *Biometals*. 2009; 22: 149-157.
4. Mozheyko L.A. Classical staining methods in histology. Grodno: GrGMU; 2010 (in Russian).
5. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application software package STATISTICA. Moskva: MediaSfera; 2002 (in Russian).
6. Beauchamp D. et al. Attenuation of

gentamicin induced nephrotoxicity in rats by feroxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 1237-1245.
7. Houghton D.C. et al. A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am. J. Pathol.* 1976; 82: 589-12.
8. Bykov V. L. Private Histology (brief survey course), 2nd ed. SPb: SOTIS; 1997 (in Russian).
9. Sheybak V.M., Sheybak L.N. The biological role of taurine in mammals.

Meditsinskie novosti. 2005; 10: 65-15 (in Russian).
10. Sheybak V. M., Sheybak L. N. Biosynthesis and exchange of taurine. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2005; 1: 9-12 (in Russian).
11. Sheybak V. M., Sheybak L. N. The biological role of zinc and zinc prospects for medical use-containing preparations. Grodno: GrGMU; 2003 (in Russian).

O.N. Basalai, E.Ch. Mikhalchuk, S.M. Zimatkin, M. I. Bushma, O. A. Borisenok

NEPHROPROTECTIVE ACTION OF COMBINATION OF TAURINE WITH ZINC DIASPARTATE IN RATS WITH GENTAMICIN NEPHROPATHY

Education establishment «Grodno State Medical University» of Ministry of health of Republic of Belarus: M.V. Korablev department of pharmacology; department of histology, cytology and embryology, 230005, Grodno, Belarus

In rats with gentamicin nephropathy (gentamicin injected intra-abdominally, 60 mg/kg daily over 10 days), a combination of taurine with zinc diaspартate administrated in the stomach in the ratio of 1.0 g + 0.14g -250 mg/kg and particularly of 1.0+0.06 g - 500 mg/ kg) has a nephroprotective effect that is proved by weakened lesions of cortical nephrons proximal convoluted tubules.

Keywords: rats, gentamicin nephropathy, combination of taurine with zinc diaspартate, nephroprotective action.

Материал поступил в редакцию 14.04.2015 г.

УДК:615.099:661.722:616-008.9-085

ХРОНИЧЕСКАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ ЭТАНОЛОМ: МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ

А.И. Конопля, А.Л. Локтионов,
В.В. Дудка, С.А. Долгарева,
А.В. Сорокин, О.Н. Бушмина

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, г. Курск, Российская Федерация

Уэкспериментальных животных с 30-дневной, в большей степени с 60-дневной интоксикацией этанолом установлено развитие токсического поражения печени, «окислительного стресса», нарушения функционально-метаболической активности эритроцитов и нейтрофилов периферической крови. Применение сочетания иммуномодулятор (лонгидаза), антиоксидант (мексикор) и мембранопротектор (эссенциале форте Н) корригирует полностью метаболические нарушения при 30-дневной интоксикации этанолом и частично при 60-дневном его введении.

Ключевые слова: интоксикация этанолом, коррекция метаболических нарушений.

Введение. Одной из важных медико-социальных проблем являются хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) и связанные с ней заболевания. Головной мозг, поджелудочная железа и печень – органы, наиболее чувствительные к действию алкоголя, который является ведущим в этиологической структуре патологии гепатопанкреатобилиарной системы [1,2,3]. Возникающий при длительном приеме алкоголя вторичный иммунный дефицит с последующим присоединением на этом фоне соматической патологии являются ведущими при развитии резистентности к проводимой фармакотерапии заболевания [4,5,6]. В связи с этим очевидна целесообразность дальнейшего изучения метаболических нарушений при кратковременной и хронической интоксикации этанолом и разработки новых методов их фармакологической коррекции.

Целью настоящего исследования стало изучение метаболических изменений при хронической интоксикации этанолом и разработка методов фармакологической коррекции нарушений.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на 70 здоровых половозрелых крысах-самцах Вистар массой 150-200 г. Все исследования проводили в одно и то же время суток с 8 до 12 ч, содержание и эвтаназию животных проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (приказ МЗСР РФ № 708н от 23.08.10 г.). Кратковременную алкогольную интоксикацию моделировали принудительным внутривенным введением 20% раствора этанола в дозе 3 мл/кг через 24 часа в течение 5 дней. При хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) этанол вводили в течение 30 или 60 дней (ХАИ-30, ХАИ-60). Экспериментальных животных разделили на 6 групп по 11-12 особей в каждой: 1-я группа (контрольная); 2-я получала этанол в течение 5 дней через 24 часа; 3-я группа – ХАИ-30; 4-я группа – ХАИ-60; 5-я группа – ХАИ-30 и введение Лонгидазы (100 МЕ,

Конопля Александр Иванович (Konoplya Aleksandr Ivanovich), доктор мед. наук, проф., заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой биологической химии Курского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, г. Курск, Российская Федерация, konoplya51@mail.ru

Локтионов Алексей Леонидович (Loktionov Alexey Leonidovich), доктор мед. наук, доц. кафедры хирургических болезней №2 Курского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, г. Курск, Российская Федерация, ala-loc@yandex.ru

Дудка Валентин Викторович (Dudka Valentin Viktorovich), ассистент кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, г. Курск, Российская Федерация, dudkaviktor@rambler.ru

Долгарева Светлана Анатольевна (Dolgareva Svetlana Anatolevna), доктор мед. наук, проф. кафедры биологической химии Курского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, г. Курск, Российская Федерация, ala-loc@yandex.ru

Сорокин Александр Владимирович (Sorokin Aleksandr Vladimirovich), студент 6 курса лечебного факультета Курского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, г. Курск, Российская Федерация, vfts@mail.ru

Бушмина Ольга Николаевна (Bushmina O.N.), ассистент кафедры биологической химии Курского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, г. Курск, Российская Федерация, bushminaon@kursksmu.net

через 48 часов, №10), Мексикора (50 мг/кг внутривенно, через 24 часа, №10) и Эссенциале форте Н (5 мг в пересчете на фосфатидилхолин, растворенных в 1 мл оливкового масла, внутривенно, через 24 часа, №30); 6-я группа – ХАИ-60 и введение препаратов. Забой крыс осуществляли через 24 часа после последнего введения этанола и препаратов.

Для оценки функционального состояния гепатоцитов в плазме крови определяли активность аспартат- и аланинаминотрансфераз (АСТ, АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гаммаглутаминтранспептидазы (ГГТ), содержание билирубина и протромбиновый индекс (ПТИ). Концентрацию фибриногена исследовали методом Рутберг. Величины всех перечисленных показателей определяли унифицированными методами с использованием стандартных наборов реактивов. Индикаторами синдрома цитолиза являлась активность АСТ и АЛТ; токсического поражения печени – коэффициенты соотношений ферментов АСТ/АЛТ (де Ритиса) и ГГТ/АСТ; внутриклеточного холестаза – активность ЩФ, ГГТ и концентрация билирубина; недостаточности синтетических процессов – концентрация фибриногена и ПТИ. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в плазме крови ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА) [7]. Кроме этого, определяли активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [8]. Общую антиокислительную активность (ОАА) плазмы крови определяли методом, основанным на степени ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА. Концентрацию стабильных метаболитов оксида азота (SM_{NO}) исследовали спектрофотометрически с помощью реактива Грисса. Функционально-метаболическую активность полиморфно-ядерных лейкоцитов крови оценивали по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ), индексу активности фагоцитоза (ИАФ) [9]. Активность кислород-зависимых систем нейтрофилов оценивали по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), спонтанного и стимулированного зимозаном (НСТ-ст. н/з), (НСТ-ст. о/з), с расчетом функционального резерва [10]. Подсчет общего количества эритроцитов и содержания гемоглобина проводили по общепринятым методикам. Кроме этого, определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) [11] и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [12]. О метаболическом состоянии эритроцитов судили по внутриклеточной концентрации МДА, АГП и активности СОД.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась путем вычисления средних арифметических, стандартных ошибок и ошибок средних. Существенность различий средних вели-

чин оценивали по критерию Стьюдента [13]. Степень расстройств для лабораторных показателей рассчитывали по формуле [14]:

$$\left(\frac{\text{показатель экспериментального животного}}{\text{показатель здорового животного}} - 1 \right) \times 100\%$$

Примечание: в интервале от 1 до 33% полученная величина соответствует первой степени лабораторных расстройств, от 34 до 66% – второй, более 66% – третьей.

Результаты и обсуждение. У животных с 5-кратным введением этанола выявлено только увеличение активности АСТ и коэффициента де Ритиса за счет повышения АСТ. У крыс с ОДП на фоне 5-дневной алкогольной интоксикации наблюдалось повышение концентрации билирубина, активности АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТ и коэффициента ГГТ/АСТ, снижение уровня фибриногена, коэффициента де Ритиса при повышении ПТИ (табл. 1).

Введение этанола в течение 30 дней по сравнению с 5-дневной интоксикацией вызывало изменение почти всех исследованных показателей (за исключением ЩФ и соотношения ГГТ/АСТ) функциональной активности гепатоцитов: повысились ПТИ, активность АСТ, АЛТ, ГГТ и содержание билирубина, снизилась концентрация фибриногена и соотношение АСТ/АЛТ. 60-дневная интоксикация этанолом по сравнению с ХАИ-30 более существенно повышала активность АСТ, ЩФ, ГГТ, коэффициенты де Ритиса и ГГТ/АСТ, содержание билирубина, фибриногена и снижала ПТИ. У крыс с ОДП на фоне ХАИ-60 по сравнению с аналогичным временным введением этанола повышались активность АЛТ, ЩФ, коэффициенты ферментативной активности, но снижалось содержание фибриногена (табл. 1).

Введение сочетания препаратов в составе иммуномодулятора Лонгидазы, антиоксиданта Мексикора и мембранопротектора Эссенциале форте Н экспериментальным животным с ХАИ-30 нормализовало все исследованные показатели функциональной активности гепатоцитов. Введение тех же препаратов в условиях ХАИ-60 нормализовало полностью ПТИ и активность АЛТ, частично, не до уровня показателей здоровых животных, активность АЛТ, ГГТ и содержание билирубина, не влияя на соотношения ферментов и активность ЩФ (табл. 1).

При изучении уровня стабильных метаболитов оксида азота, состояния ПОЛ и факторов антиоксидантной защиты при алкогольной интоксикации было установлено, что у животных с 5-кратным введением этанола отмечается только увеличение содержания АГП. 30-дневное принудительное поступление этанола выявило повышение МДА, АГП, активности каталазы, снижение СОД и уровня SM_{NO} . Введение этанола в течение 60 суток по сравнению с ХАИ-30 повышало содер-

Таблица 1

Функциональная активность гепатоцитов, состояние перекисного окисления липидов, факторов антиоксидантной защиты, уровень стабильных метаболитов оксида азота на фоне кратковременной и длительной интоксикации этанолом; коррекция нарушений (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5	6
		Контроль	Интоксикация этанолом				
			5 дней	30 дней	60 дней	30 дней + Лонгидаза + Мексикор + Эссенциале форте Н	60 дней + Лонгидаза + Мексикор + Эссенциале форте Н
АСТ	Е/ч•л	21,3±1,56	26,1±2,13 ^{*1}	36,4±2,8 ^{*1,2}	45,6±3,3 ^{*1-3}	22,5±2,7 ^{*3}	30,4±2,17 ^{*1,4}
АЛТ	Е/ч•л	20,1±2,38	19,6±1,4	41,1±3,49 ^{*1,2}	39,14±3,9 ^{*1,2}	20,7±1,8 ^{*3}	25,7±2,2 ^{*4}
Коэффициент де Ритиса, АСТ/АЛТ		1,06±0,02	1,33±0,05 ^{*1}	0,89±0,03 ^{*1,2}	1,16±0,05 ^{*1-3}	1,09±0,04 ^{*3}	1,18±0,05 ^{*1}
ЩФ	Е/ч•л	249,2±18,8	261,4±12,5	232,2±26,1	328,6±12,9 ^{*1-3}	236,0±30,7	336,6±39,8 ^{*1}
ГГТ	Е/ч•л	4,8±0,22	5,12±1,04	7,63±1,01 ^{*1,2}	20,2±3,6 ^{*1-3}	5,6±1,1 ^{*3}	12,8±1,42 ^{*1,4}
ГГТ/АСТ		0,23±0,01	0,2±0,02	0,21±0,01	0,44±0,02 ^{*1-3}	0,25±0,02 ^{*3}	0,42±0,03 ^{*1}
Билирубин	мкмоль/л	5,74±1,18	4,91±0,93	8,03±1,09 ^{*1,2}	14,47±1,15 ^{*1-3}	6,51±1,1 ^{*3}	8,81±1,03 ^{*1,4}
ПТИ	%	60,1±1,63	62,7±2,41	72,5±0,96 ^{*1,2}	67,9±1,55 ^{*1-3}	59,2±3,48 ^{*3}	58,0±3,66 ^{*4}
Фибриноген	г/л	3,12±0,09	3,4±0,21	2,34±0,25 ^{*1,2}	3,03±0,28 ^{*3}	3,16±0,24 ^{*3}	3,08±0,26
МДА	мкмоль/л	2,15±0,32	2,56±0,14	3,37±0,18 ^{*1,2}	5,12±0,28 ^{*1-3}	2,7±0,28 ^{*3}	2,24±0,17 ^{*4}
АГП	усл. ед.	0,21±0,05	0,34±0,03 ^{*1}	0,48±0,04 ^{*1,2}	0,64±0,08 ^{*1-3}	0,33±0,07 ^{*1,3}	0,42±0,03 ^{*1,4}
ОАА	%	40,33±1,12	38,4±2,1	41,1±0,65	38,43±0,63	44,8±1,03 ^{*1,3}	42,7±1,12 ^{*4}
СОД	усл. ед./мл	9,03±0,51	10,1±0,47	8,16±0,41 ^{*1,2}	7,8±0,25 ^{*1,2}	9,12±0,29 ^{*3}	8,9±0,82 ^{*4}
Каталаза	мкат/л	11,31±0,62	12,6±1,71	13,45±0,59 ^{*1}	10,74±0,47 ^{*2,3}	11,3 ±0,45 ^{*3}	12,7±0,8 ^{*4}
СМ _{NO}	мкмоль/л	6,84±0,29	6,39±0,31	3,19±0,16 ^{*1,2}	3,8±0,3 ^{*1-3}	4,48±0,29 ^{*1,3}	4,7±0,65 ^{*1,4}

Примечание: на этой и последующих таблицах звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических (p=0,05); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

жание МДА, АГП, СМ_{NO} и снижало активность каталазы (табл. 1).

Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н при ХАИ-30 нормализовали содержание МДА, активность ферментов антиоксидантной защиты, корректировали уровень АГП и СМ_{NO} и компенсаторно выше значения контрольных животных повышали ОАА. В условиях ХАИ-60 введение препаратов нормализовало ОАА, концентрацию МДА, активность СОД и каталазы и корректировало уровень АГП и СМ_{NO} (табл. 1).

При оценке показателей метаболизма эритроцитов установлено, что при 5-дневном введении этанола наблюдается снижение их общего количества, активности СОД и сорбционных показателей. При ХАИ-30 и ХАИ-60 выявлено снижение количества эритроцитов, повышение ПОЛ, сниже-

ние факторов антиоксидантной защиты, при этом более выраженные изменения отмечались при 60-суточном поступлении этанола. Принципиальным стало то, что установлено разнонаправленное изменение сорбционных свойств эритроцитов: при ХАИ-30 повышено СЭЭ и СЭГ, а при ХАИ-60 эти показатели наоборот снижены (табл. 2).

Введение Лонгидазы, Мексикора и Эссенциале форте Н при ХАИ-30 приводило к норме количество эритроцитов, концентрацию АГП, активность каталазы и СЭЭ, а также активность СОД и СЭГ. То же сочетание препаратов при ХАИ-60 нормализует количество эритроцитов, активность каталазы и СЭГ, корректирует концентрацию АГП, активность СОД и СЭЭ, не влияя на повышенный уровень МДА (табл. 2).

При оценке показателей функциональной ак-

тивности полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови по сравнению с контролем в ответ на 5-дневное введение этанола отмечалось снижение ФП, ФЧ, ИАФ, но активация кислородзависимого метаболизма клеток (повышение НСТ-спонтанного и стимулированных опсонизированным и неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з), (НСТ-ст. о/з), снижение функциональных резервов гранулоцитов (КАн, КАо, КО). При 30- и 60-дневном введении этанола у экспериментальных животных также наблюдалось снижение показателей фагоцитоза (ФП, ФЧ и ИАФ), повышение кислородзависимого метаболизма полиморфноядерных лейкоцитов в НСТ-тестах спонтанном и стимулированном неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з) и сохраненной на нормальном уровне стимулированной активности нейтрофилов при постановке НСТ теста с опсонизированным зимозаном (НСТ-ст. о/з). Уменьшение разницы между показателями НСТ-ст. о/з, НСТ-ст. н/з и НСТ-сп., закономерно привело к снижению коэффициентов клеточной активности (КАн, КАо и КО) (табл. 2).

Введение Лонгидазы, Мексикора и Эссенциале форте Н в условиях ХАИ-30 нормализовало ФЧ, НСТ-ст. н/з и КО, корректирует, но не до уровня нормы остальные показатели функционально-метаболической активности нейтрофилов крови. При ХАИ-60 введение препаратов нормализует КО, корригирует ФЧ, ИАФ, НСТ-сп. И КАо, не влияя на измененные введением в течение 60 дней этанола ФП, НСТ-ст. н/з и КАн (табл. 2).

При количественном сопоставлении числа нарушенных показателей в различных условиях опыта с делением глубины нарушений по степени установлено, что при введении этанола в течение 5 дней нарушенными из 31 исследованного лабораторного показателя оказались 16 (51,6%), из которых 2-3 степени только 3 (9,7%). Этанольная интоксикация в течение 30 или 60 дней соответственно приводит к нарушению 26 (83,9%) лабораторных показателей со значительным увеличением нарушений суммы 2-3 степени, соответственно 13 (41,9%) и 14 (45,2%), что требует обязательной фармакологической коррекции [14]. При 60-дневной интоксикации значительно увеличилось число нарушенных показателей 3 степени по сравнению с 30-дневным введением этанола: соответственно 9 (29%) и 4 (12,9%). Коррекция метаболических нарушений применением сочетания Лонгидазы, Мексикора и Эссенциале форте Н при ХАИ-30 снижает число нарушенных показателей с 26 до 11, при этом изменений 2 степени осталось только 3 (9,7%). В меньшей мере оказалась эффективным то же сочетание препаратов при ХАИ-60, т.к. измененными остались 19 показателей, а из них 2-3 степени 11 (35,5%)

Полученные нами данные позволяют заклю-

чить, что у животных на фоне алкогольной интоксикации наблюдается развитие основных биохимических синдромов поражения печени: цитолитического, внутриклеточного холестаза, токсического поражения по воспалительному типу и недостаточности синтетических процессов, причем выраженность этих синдромов нарастает в зависимости от времени интоксикации этанолом (от 5 до 60 суток).

Активация свободно-радикального окисления как фактор патогенеза многих заболеваний в настоящее время не подвергается сомнению [5,15], что подтверждено в настоящей работе, т. к. принудительное введение этанола экспериментальным животным проявляется повышением продуктов ПОЛ и снижением активности ферментов антиоксидантной системы в сыворотке крови и эритроцитах, повышением кислородзависимой активностью нейтрофилов периферической крови. Выраженность изменений показателей также возрастает по мере временной интоксикации этанолом.

Патогенетический механизм окислительного стресса характеризуется снижением уровня АТФ, повышением содержания гипоксантина, превращением ксантиндегидрогеназы в образующую прооксиданты ксантиноксидазу. В условиях снижения количества эритроцитов, гемоглобина, что также имеет место в наших исследованиях, гипоксии при восстановлении кровотока происходит приток молекулярного кислорода и кальция, что ускоряет взрыв кислородпроизводных свободных радикалов, возникающих в результате действия ксантиноксидазы и других оксидантных ферментов, в том числе и индуцибельной синтазы оксида азота. Оксид азота необратимо инактивируется реакцией с гемоглобином (оксигенированной и деоксигенированной формами) в просвете кровеносного сосуда, супероксидным радикалом в стенке кровеносного сосуда или кислородом в свободном растворе. Реакция оксида азота с кислородом сопровождается образованием стабильных конечных продуктов – нитрита и нитрата, которые являются косвенными маркерами концентрации оксида азота в организме [16,17]. Исходя из этого, выявленное нами снижение может СМНО свидетельствовать о некомпенсированном расходе оксида азота, что способно вызывать вазоконстрикцию и тромбоз, которые могут дополнительно возникать вследствие выявленном нами повышении ПТИ при воздействии этанола.

Известно, что длительная интоксикация этанолом вызывает развитие иммунодефицита как в отношении адаптивных, так и врожденных механизмов иммунитета [4,5,6]. Кроме этого, при повышении процессов ПОЛ и токсических поражениях печени изменяются структурно-функциональные свойства эритроцитов с нарушением, в том числе, и их сорбционной способности, что усугубляет

Таблица 2

Функционально-метаболическая активность эритроцитов и полиморфноядерных лейкоцитов крови на фоне кратковременной и длительной интоксикации этанолом; коррекция нарушений ($M \pm m$)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5	6
		Контроль	Интоксикация этанолом				
			5 дней	30 дней	60 дней	30 дней + Лонгидаза + Мексикор + Эссенциале форте Н	60 дней + Лонгидаза + Мексикор + Эссенциале форте Н
Количество эритроцитов	10^{12} /л	5,09±0,08	3,91±0,58* ¹	4,24±0,12* ^{1,2}	4,29±0,19* ^{1,2}	5,23±0,14* ³	5,03±0,07* ⁴
Нь	г/л	13,5±0,35	14,42±0,72	14,3±0,42	14,63±1,0	13,2±0,67	14,1±0,41
МДА	мкмоль/л	0,37±0,06	0,41±0,05	0,43±0,03	0,57±0,05* ¹⁻³	0,4±0,05	0,6±0,04* ¹
АГП	усл. ед.	0,13±0,01	0,12±0,02	0,21±0,02* ^{1,2}	0,37±0,03* ¹⁻³	0,12±0,02* ³	0,22±0,03* ^{1,4}
СОД	усл. ед./мл	30,1±1,37	25,6±1,02* ¹	19,1±1,16* ^{1,2}	14,7±2,3* ¹⁻³	24,0±0,36* ^{1,3}	20,3±2,3* ^{1,4}
Каталаза	мкат/л	10,2±0,62	9,6±0,7	8,5±0,39* ^{1,2}	7,04±0,27* ¹⁻³	11,2 ±0,35* ³	12,0±0,67* ⁴
СЕЭ	%	52,51±0,55	44,37±2,26* ¹	55,6±1,51* ^{1,2}	28,02±3,05* ¹⁻³	53,5±1,2	42,2±2,3* ^{1,4}
СЕГ	10^{12} г/эр	2,78±0,03	2,3±0,04* ¹	3,7±0,1* ^{1,2}	3,35±0,14* ¹⁻³	3,3 ±0,12* ^{1,3}	2,8±0,12* ⁴
ФП	%	77,2±1,61	54,4±2,67* ¹	58,0±3,54* ¹	58,57±3,0* ¹	70,1±3,1* ^{1,3}	60,5±4,1* ¹
ФЧ	абс.	2,82±0,1	2,24±0,05* ¹	2,32±0,07* ¹	2,47±0,09* ¹	2,71±0,06* ³	2,63±0,05* ^{1,4}
ИАФ		2,17±0,09	1,22±0,04* ¹	1,35±0,04* ^{1,2}	1,46±0,07* ¹	1,9±0,05 * ^{1,3}	1,59±0,02* ^{1,4}
НСТ-сп.	mOD	0,81±0,02	1,28±0,05* ¹	1,5±0,03* ^{1,2}	1,65±0,04* ¹⁻³	1,08±0,07* ^{1,3}	1,52±0,04* ^{1,4}
НСТ-ст. н/з	mOD	1,29±0,02	1,38±0,05* ¹	1,38±0,04* ¹	1,49±0,09* ¹	1,27±0,04* ³	1,38±0,03* ¹
НСТ-ст. о/з	mOD	1,56±0,03	1,72±0,04* ¹	1,52±0,08* ²	1,6±0,05* ²	1,54±0,06	1,59±0,07
КАн	-	1,59±0,05	1,08±0,05* ¹	0,92±0,06* ^{1,2}	0,9±0,04* ^{1,2}	1,18±0,03* ^{1,3}	0,91±0,03* ¹
КАо	-	1,93±0,06	1,34±0,03* ¹	1,01±0,05* ^{1,2}	0,97±0,02* ²	1,43±0,04* ^{1,3}	1,05±0,02* ^{1,4}
КО	-	1,21±0,04	1,25±0,03	1,1±0,04* ^{1,2}	1,07±0,06* ^{1,2}	1,21±0,02* ³	1,15±0,03

развитие метаболической иммуносупрессии [18,19, 20], что выявлено нами и при хронической интоксикации этанолом.

С учетом выявленных нарушений при хронической интоксикации этанолом (мембраноповреждающие эффекты, окислительный стресс, развитие вторичной метаболической иммуносупрессии) для коррекции повреждений применялось сочетание иммуномодулятора, антиоксиданта и мембранопротектора, которое оказывала выраженные корректирующие эффекты на функциональную активность гепатоцитов, оксидантные показатели, структуру и функцию эритроцитов и полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови. Полученные результаты позволяют утверждать, что эффективность комбинации обусловлена удачным сочетанием фармакологических эффектов каждого отдельно взятого препарата, входившего в ее состав.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что как кратковременное (5 суток), так и длительное введение этанола экспериментальным животным приводит к метаболическим нарушениям, но если при кратковременном поступлении этанола изменения носят реактивный характер, то при 30-дневной, в большей степени 60-дневной интоксикации этанолом возникают выраженные нарушения: токсическое поражение печени, «окислительный стресс», дисбаланс функционально-метаболической активности эритроцитов и нейтрофилов периферической крови. Применение сочетания иммуномодулятора (Лонгидаза), антиоксиданта (Мексикор) и мембранопротектора (Эссенциале форте Н) корректирует полностью метаболические нарушения при 30-дневной интоксикации этанолом и частично при 60-дневном его введении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Винник Ю.С., Дунаевская С.С., Антофриева Д.А. Риск развития осложненных при остром алкоголь-ассоциированном панкреатите. *Новости хирургии*. 2012; 20(4): 38-41.
 2. Летуновский А.В. Метаболические изменения в печени при экспериментальном алкогольном панкреатите и их коррекция. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2011; 6 (129): 90-4.
 3. Халютин Д.А., Ховпачев А.А., Гребенюк А.Н., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Колобов А.А. Терапевтический эффект нейропептидов и гепатопротектора моликсан при острых отравлениях этанолом. *Токсикологический вестник*. 2015; (2): 10-7
 4. Бровкина И.Л., Быстрова Н.А., Гаврилюк В.П., Павлова М.В. Иммуно-метаболические нарушения в условиях экспериментальной этанольной интоксикации. *Вестн. новых мед. технол.* 2007; XIV(2): 9-11.
 5. Локтионов А.Л., Конопля А.И., Евсегнеева И.В. Острый панкреатит как клинико-иммунологическая проблема (обзор литературы). *Физиология и патология иммунной системы*. Иммунофармако-

генетика, 2013; 17(11): 3-17.
 6. Мхитаров В.А., Диатроптов М.Е., Симонова Е.Ю. Влияние длительного потребления алкоголя на иммунную систему самцов крыс Вистар предпочитающих и не предпочитающих алкоголь. *Медицинская иммунология*. 2015; 117: 35.
 7. Стальная Н.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: Ореховича В.Н., ред. *Современные методы в биохимии*. М.; 1977: 66-8.
 8. Костюк В.А., Потопович А.И., Ковалева Ж.И. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопросы медицинской химии*. 1990; (2): 88-91.
 9. Медведев А. Н., Чаленко В. В. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза. *Лаб. дело*. 1991; (2): 19-20.
 10. Щербаков В.И. Применение НСТ-теста для оценки чувствительности нейтрофилов к стимуляторам. *Лаб. дело*. 1989; (1): 30-3.
 11. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В. Способ диагностики эндогенной

интоксикации. *Лабораторное дело*. 1988; 9: 22-4.
 12. Семко Г.А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе. *Украинский биохимический журнал*. 1998; 70(3): 113-8. (in Russian)
 13. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. М.; 1980.
 14. Земсков А.М., Земсков В.М., Новикова Л.А. Избранные проблемы иммунологии. Воронеж: Изд-во Воронежского государственного университета; 1997.
 15. Надеев А.Д., Зинченко В.П., Авдонин П.В., Гончаров Н.В. Токсические и сигнальные свойства активных форм кислорода. *Токсикологический вестник*. 2014; 2 (125): 22-7.
 16. Гайнуллина Д.К., Кирюхина О.О., Тарасова О.С. Оксид азота в эндотелии сосудов: регуляция продукции и механизмы действия. *Успехи физиол. наук*. 2013; 44(4): 88-102.
 17. Свиридова С.П., Сытов А.В., Кашия Ш.Р., Сотников А.В. Роль оксида азота в патогенезе сепсис-индуцированной полиорганной недостаточности. *Методы*

коррекции. *Вестник интенсивной терапии*. 2014; (2): 8-17.
 18. Гаврилюк В.П., Назаренко П.М., Конопля А.И. Структурно-функциональные нарушения эритроцитов и их коррекция у больных с легким и тяжелым течением острого панкреатита. *Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье»*. Курск, 2007; 3: 29-36.
 19. Гаврилюк В.П., Белоконова О.П., Конопля А.И., Быстрова Н.А. Эффективность различных лекарственных форм «Фосфоглива» в коррекции структурно-функциональных нарушений мембраны эритроцитов при остром токсическом поражении печени. *Системный анализ и управление в биомедицинских системах*. 2011; 10(2): 269-73.
 20. Белоконова О.Н., Конопля А.И., Покровский М.В., Гаврилюк В.П., Долгарева С.А. Нарушения белково-липидного спектра мембраны эритроцитов при экспериментальной острой лекарственной гепатопатии, коррекция различными формами препарата «Фосфоглив». *Фундаментальные исследования*. 2011; 11: 481-84.

REFERENCES:

1. Vinnik Yu.S., Dunaevskaya S.S., Antyufrieva D.A. Risk of development of complications at acute alcohol – the associated pancreatitis. *Novosti khirurgii*. 2012; 20(4): 38-(in Russian)
 2. Letunovskiy A.V. Metabolic changes in a liver at experimental alcoholic pancreatitis and their correction. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik*. 2011; 6 (129): 90-(in Russian)
 3. Khalyutin D.A., Khovpachev A.A., Grebenyuk A.N., Reynyuk V.L., Antushevich A.E., Ko-lobov A.A. Therapeutic effect of neuropeptides and hepatoprotector molixan at acute poisonings with ethanol. *Toksikologicheskii vestnik*. 2015; (2): 10-7 (in Russian)
 4. Brovkina I.L., Bystrova N.A., Gavriilyuk V.P., Pavlova M.V. Immunometabolic disturbances in the conditions of an experimental ethanol intoxication. *Vestn. novykh med. tekhnol.* 2007; XIV(2): 9-(in Russian)
 5. Loktionov A.L., Konoplya A.I., Evsegneeveva I.V. Acute pancreatitis as clinic and immunologic problem (review of literature). *Fiziologiya i patologiya immunnnoy sistemy*. *Immunofarmakogenetika*, 2013; 17(11):

3-(in Russian)
 6. Mkhitarov V.A., Diatroptov M.E., Simonova E.Yu. Influence of long consumption of alcohol on immune system of males of rats Wistar preferring and not preferring alcohol. *Meditsinskaya immunologiya*. 2015; 117: (in Russian)
 7. Stal'naya N.D., Garishvili T.G. Method of definition of a low-new dialdehyde by means of tiobarbiturovy acid. V kn.: Orekhovicha V.N., red. *Sovremennye metody v biokhimii*. М.; 1977: 66-(in Russian)
 8. Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.I. The simple and sensitive method of definition of a superoksidismutaza based on reaction of oxidation of Quercetinum. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1990; (2): 88-(in Russian)
 9. Medvedev A. N., Chalenko V. V. Way of research of an absorption phase of a phagocytosis. *Lab. delo*. 1991; (2): 19-(in Russian)
 10. Shcherbakov V.I. Application of NBT test for an assessment of sensitivity of neutrophils to stimulators. *Lab. delo*. 1989; (1): 30-(in Russian)
 11. Togaybaev A.A., Kurguzkin A.V.,

Rikun I.V. Way of diagnosis of endogenous intoxication. *Laboratomoe delo*. 1988; 9: 22-(in Russian)
 12. Semko G.A. Structural and functional changes of membranes and of external layers of membranes of the erythrocytes at a giperepidemopoeza. *Ukrainskiy biokhimicheskiy zhurnal*. 1998; 70(3): 113-(in Russian)
 13. Lakin G.F. *Biometry*. М.; 19(in Russian)
 14. Zemskov A.M., Zemskov V.M., Novikova L.A. Chosen problems of an immunology. *Voronezh: Izd-vo Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta*; 19(in Russian)
 15. Nadeev A.D., Zinchenko V.P., Avdonin P.V., Goncharov N.V. Toxic and alarm properties of active forms of oxygen. *Toksikologicheskii vestnik*. 2014; 2 (125): 22-(in Russian)
 16. 16. Gaynullina D.K., Kiryukhina O.O., Tarasova O.S. Nitrogen oxide in an endothelium of vessels: regulation of production and mechanisms of action. *Uspekhni fiziol. nauk*. 2013; 44(4): 88-1(in Russian)
 17. Sviridova S.P., Sytov A.V., Kashiya Sh.R., Sotnikov A.V. Role of an oxide of

nitrogen in a pathogenesis a sepsis – the induced multiorgan failure. *Correction methods. Vestnik intensivnoy terapii*. 2014; (2): 8-(in Russian)
 18. Gavriilyuk V.P., Nazarenko P.M., Konoplya A.I. Structural and functional disturbances of erythrocytes and their correction at patients with the mild and serious course of acute pancreatitis. *Kurskiy nauch.-prakt. vestn. «Chelovek i ego zdorov'e»*. Курск, 2007; 3: 29-(in Russian)
 19. Gavriilyuk V.P., Belokonova O.P., Konoplya A.I., Bystrova N.A. Efficiency of various dosage forms «Fosfogliv» in correction of structural and functional disturbances of a membrane of erythrocytes at an acute toxic lesion of a liver. *Sistemnyy analiz i upravlenie v biomeditsinskikh sistemakh*. 2011; 10(2): 269-(in Russian)
 20. Belokonova O.N., Konoplya A.I., Pokrovskiy M.V., Gavriilyuk V.P., Dolgareva S.A. Disturbances of an albuminous and lipide range of a membrane of erythrocytes at an experimental acute medicinal hepatopathy, correction by various forms of the preparation «Fosfogliv». *Fundamental'nye issledovaniya*. 2011; 11: 481-(in Russian).

A.I. Konoplya, A.L. Loktionov, V.V. Dudka, S.A. Dolgareva, A.V. Sorokin, O.N. Bushmina

CHRONIC INTOXICATION WITH ETHANOL: METABOLIC CHANGES, CORRECTION OF DISTURBANCES

Kursk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 305041, Kursk, Russian Federation

In experimental animals with 30-day and to a greater extent 60-day ethanol intoxication, the development of toxic lesion of the liver, «oxidative stress», disturbances of functional and metabolic activity of erythrocytes and neutrophils in peripheral blood was established. The application of a combination of immune modulator (longidaza), antioxidant (mexicor) and membrane protector (essentiale forte H) completely corrects metabolic disturbances at 30-day ethanol intoxication and partially at 60-day ethanol intoxication.

Keywords: ethanol intoxication, correction of metabolic disturbances.

Материал поступил в редакцию 25.06.2015 г.

УДК [615.9:547.26]-074

ОСОБЕННОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГЕКСИЛОВОГО ЭФИРА 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ ОДНО- И МНОГОКРАТНОГО ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ

Е.К. Власенко, С.И. Сычик,
В.А. Стельмах,
В.А. Грынчак

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 220012, г. Минск, Республика Беларусь

В эксперименте на лабораторных крысах и мышах исследованы особенности токсического действия перспективного регулятора роста растений гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях одно- и многократного внутрижелудочного введения. При однократном внутрижелудочном введении среднесмертельная доза DL_{50ac} ГЭ-АЛК для мышей (самцы) составляет 3000 мг/кг, для крыс (самки) – 7800 мг/кг, видовая резистентность не выражена ($KBЧ < 3$). Порог острого действия Lim_{ac} установлен на уровне среднеэффективной дозы ED_{50} (мыши) - 73 мг/кг. Величина коэффициента кумуляции, полученная по методу Lim et al. в опытах на мышах составляет 6,1. В опытах на крысах по методу Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича величина коэффициента кумуляции при воздействии дозы, кратной 1/5 от DL_{50ac} , составила 1,6. В качестве максимально переносимой дозы принята величина 440 мг/кг (1/20 от DL_{50ac}).

Ключевые слова: гексильовый эфир 5-аминолевулиновой кислоты, токсичность, однократное воздействие, кумулятивные свойства.

Введение. Современная инновационная платформа управления оборотом химических веществ представляется двумя взаимоувязанными процессами. Первый направлен на селективное внедрение в практику только полезной, безопасной для человека и экологически приемлемой химической продукции, а второй – на обоснование и проведение мероприятий, направленных на защиту здоровья человека и среды его обитания еще на стадии проектирования/разработки химической продукции и/или процессов ее производства. Указанным требованиям в полной мере соответствует реализуемый белорусскими учеными проект внедрения в интенсивное растениеводство оригинального регулятора роста сельскохозяйственных растений – гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты (ГЭ-АЛК).

В Институте биоорганической химии НАН Беларуси в результате разработки способа липофиллизации молекулы синтетического аналога естественных метаболитов растений – 5-аминолевулиновой кислоты создан экологически чистый продукт – ГЭ-АЛК [1], обладающий выраженными ростостимулирующими свойствами в отношении ряда сельскохозяйственных растений [2]. В соответствии с требованиями международного законодательства [3] на первом этапе развернутых токсиколого-гигиенических исследований определены параметры токсикометрии и выявлены закономерности проявления токсических свойств ГЭ-АЛК в острых и подострых экспериментах в условиях его внутрижелудочного введения лабораторным животным. Результаты прове-

Власенко Евгений Константинович (Vlasenko Evgenij Konstantinovich), научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 220012, г. Минск, Республика Беларусь, evgenii_vlasenko@mail.ru

Сычик Сергей Иванович (Syčik Sergej Ivanovich), кандидат медицинских наук, доцент, директор Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 220012, г. Минск, Республика Беларусь, rspch@rspch.by

Стельмах Виктор Александрович (Stelmah Viktor Aleksandrovich), кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 220012, г. Минск, Республика Беларусь, stelmakh2@gmail.com

Ильюкова Ирина Ивановна (Ilyukova Irina Ivanovna), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией профилактической и экологической токсикологии Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 220012, г. Минск, Республика Беларусь, toxlab@mail.ru

Грынчак Виталий Александрович (Grynchak Vitali Aleksandrovich), младший научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 220012, г. Минск, Республика Беларусь, grinchakva@gmail.com

денных экспериментов отражены в настоящем сообщении.

Материал и методы исследования. В опытах использовали ГЭ-АЛК в форме гидрохлорида. Эксперименты выполнены на 168 нелинейных белых мышках обоего пола массой тела 17-23 г и 107 рандомбредных белых крысах обоего пола массой тела 180-210 г. Обращение с животными соответствовало международным требованиям [4]. Водные растворы препарата (не более 0,2 мл/10 г массы тела) в различных дозах вводили животным внутрижелудочно с помощью иглы-зонда.

Количественные параметры острой токсичности с учетом характеристик потенциальной опасности смертельного отравления рассчитывали по [5], исходя из степени развития смертельных эффектов при введении препарата белым мышам и крысам обоего пола в диапазоне доз от 2000 до 12500 мг/кг.

В условиях однократного внутрижелудочного поступления ГЭ-АЛК установлен также порог вредного действия (Lim_{ac}). При этом в качестве подопытных животных использовали наиболее чувствительных к действию данного соединения – самцов белых мышей, а лимитирующими показателями вредности (исходя из особенностей манифестации проявлений клинической картины острого отравления) – поведенческие реакции животных. Исследования проведены на четырех группах мышей (по 7 особей в каждой): 1 группа – контроль (получала растворитель – дистиллированную воду); животные 2, 3 и 4 групп получали ГЭ-АЛК в дозах 30, 300 и 1500 мг/кг (соответственно 0,01, 0,1 и 0,5 от DL_{50}).

Количественную оценку кумуляции функционального типа проводили с использованием традиционных способов: метод «субхронической токсичности» Lim et al. [6] и метод Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича [7]. Кумулятивное действие ГЭ-АЛК по методу Lim et al. [6] изучали в режиме постоянного (через 4 дня) увеличения в 1,5 раза количества вводимого вещества в течение 28 суток при первоначальной дозе, кратной 1/10 от DL_{50ac} на самцах белых мышей (20 особей в опытной группе и 20 – в контрольной, которым вводили дистиллированную воду). Экспериментально оценку кумулятивных свойств по методу Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича [7] проводили путем внутрижелудочного введения фиксированных доз ГЭ-АЛК самцам белых крыс в течение 30 суток. Сформировано 5 групп крыс по 10 особей в каждой: I – контрольная (получала дистиллированную воду) и II, III, IV, V – опытные, подвергавшиеся воздействию ГЭ-АЛК в дозах, кратных 1/5, 1/10, 1/20 и 1/80 от DL_{50ac} , соответственно. В ходе эксперимента регистрировали изменения массы тела животных, а также сроки их гибели. По окончании эксперимента у крыс изучали ряд показателей поведенческой активности и суммационно-пороговый показатель (СПП). После

одномоментной декапитации крыс определены относительные коэффициенты массы (ОКМ) ряда внутренних органов.

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. При оценке различий между группами использовали параметрический t-критерий Стьюдента с учетом поправки Бонферрони или непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Количественные параметры представлены в виде среднего значения (M) и 95% доверительного интервала ($\pm 95\% ДИ$), либо в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [25%;75%]. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. При однократном внутрижелудочном введении ГЭ-АЛК самцам и самкам белых мышей в диапазоне доз от 2000 до 5000 мг/кг регистрировали признаки интоксикации в виде скованности, тремора передних и задних конечностей, нарушения координации движения, учащенного дыхания, судороги, у отдельных животных – паралича задних конечностей. Гибель наступала через 5-15 мин после введения исследуемого соединения. Наименьшая доза, приводившая к гибели самцов и самок мышей составляет 2500 мг/кг. У выживших особей симптомы интоксикации сохранялись в течение нескольких часов.

При однократном внутрижелудочном введении ГЭ-АЛК самцам и самкам белых крыс в диапазоне испытанных доз от 2000 до 12500 мг/кг картина интоксикации характеризовалась боковым положением тела, нарушением ориентировочно-координационной активности, апноэ. На этом фоне спустя 10-30 мин после введения препарата наступала гибель животных. Наименьшая доза, приводившая к гибели крыс, составляет 5000 мг/кг (как для самцов так и для самок). Состояние выживших особей нормализуется в течение 1-2 часов. При вскрытии павших и выживших в течение 14 суток животных макроскопически не обнаружено изменений состояния внутренних органов. Основные количественные параметры и характеристики опасности при однократном внутрижелудочном воздействии ГЭ-АЛК на изученных видах лабораторных животных представлены в таблице 1.

Установлено, что параметры токсичности и опасности острого отравления ГЭ-АЛК животных одного вида не имеют существенных гендерных отличий. Коэффициент видовой чувствительности КВЧ, рассчитанный по соотношению DL_{50} крысы/ DL_{50} мыши составляет 2,6 (видовая резистентность не выражена). Величина среднесмертельной дозы при однократном внутрижелудочном воздействии самцам мышей составляет 3000 мг/кг, что позволяет отнести ГЭ-АЛК к

Таблица 1

**Параметры токсичности и потенциальной опасности острого отравления гексилового эфира
5-аминолевулиновой кислоты при однократном внутривидочном введении**

Параметры токсичности и потенциальной опасности	Экспериментальные животные			
	Белые мыши		Белые крысы	
	самцы	самки	самцы	самки
Величины летальных доз, мг/кг				
DL ₁₆	2540	2470	6350	4800
DL ₅₀	3000 (2630-3420)	3170 (2710-3710)	8800 (6560-11800)	7800 (5740-10600)
DL ₈₄	3540	3900	12500	12600
Показатели потенциальной опасности острого отравления				
S*	1,18 (0,99-1,4)	1,26 (1,13-1,41)	1,41 (0,97-2,0)	1,62 (1,12-2,35)
R	1,39	1,58	1,97	2,63
Величины времени наступления летальных исходов, мин				
LT ₁₆	5,0	5,2	11,3	10,1
LT ₅₀	7,6 (6,4-9,0)	8,0 (6,8-9,4)	18,8(14,9-23,7)	16,6 (13,9-19,8)
LT ₈₄	11,5	12,6	31,2	27,2
Показатель потенциальной опасности острого отравления				
S**	1,52 (1,37-1,7)	1,56 (1,4-1,75)	1,66(1,38-2,0)	1,64 (1,45-1,85)

Примечание: S* - функция угла наклона прямой «доза-эффект» и S** - «время-эффект»; R - размах летальных доз (отношение DL₈₄/ DL₁₆).

3 классу опасности – к веществам умеренно опасным.

Для определения порога острого действия использовали самцов мышей, которым однократно внутривидочно вводили водный раствор ГЭ-АЛК. После введения исследуемого соединения каждое животное выдерживали в индивидуальной клетке 5 минут, затем помещали в установку «открытое поле», где устанавливали наблюдение за поведением в течение 5 минут. Гибели подопытных животных не зарегистрировано. Результаты наблюдений свидетельствуют об угнетении вертикальной и исследовательской активности, а также об изменении количества эпизодов груминга, получавших ГЭ-АЛК в дозе 1500 мг/кг. Введение ГЭ-АЛК в дозе 1500 мг/кг вызывает достоверное снижение ряда показателей: «норкового рефлекса» - в 7 раз, количества вертикальных стоек и эпизодов груминга - до нулевых значений. При этом, показатель горизонтальной активности данной подопытной группы (количество пересеченных секторов) не отличался от такового в

контроле. В группах животных, получавших ГЭ-АЛК в дозах 30 и 300 мг/кг не отмечено статистически значимых отклонений показателей от контроля. Однако следует отметить, что некоторые особи в группе III демонстрировали отдельные признаки интоксикации в виде скованности и ходульной походки. Указанное позволяет определить величину 300 мг/кг как наименьшую действующую дозу ГЭ-АЛК по поведенческим показателям.

В процессе эксперимента выполнено определение величины среднеэффективной дозы (ED₅₀) пробит-анализом по методу Литчфилда и Уилкоксона в изложении [5], рассчитанной по наиболее чувствительному поведенческому показателю, выходящему за пределы границ доверительного интервала среднегруппового значения контрольной группы. Данный способ используется при изучении токсических свойств фармакологических субстанций и подразумевает учет токсического эффекта в альтернативной форме типа «все или ничего». Для определения величин эффектив-

ных доз были выбраны показатели «количество вертикальных стоек» и «количество эпизодов груминга», которые продемонстрировали дозозависимые эффекты при переходе от градуированной формы учета к альтернативной (табл. 2). При применении альтернативной формы учета токсического эффекта наиболее чувствительным является показатель «количество эпизодов груминга». Таким образом, среднеэффективная доза ED₅₀ ГЭ-АЛК, полученная в результате изучения поведенческой активности мышей, составляет 73 мг/кг (соответствует 1/40 DL_{50ac}).

Традиционно в качестве пороговой предполагается наименьшая действующая доза химического соединения, вычисленная по результатам статистической обработки в сравнении с контролем. Учитывая, что только при оценке поведения нами получены достоверные изменения физиологического статуса подопытных животных, полагаем возможным установление порога острого действия Lim_{ac} ГЭ-АЛК на уровне среднеэффективной дозы ED₅₀, равной 73 мг/кг. На основании полученных данных рассчитывали показатель зоны острого действия по соотношению DL_{50ac} / Lim_{ac}, значение которого составляет 41.

При изучении кумулятивных свойств ГЭ-АЛК методом Lim et al. за время опыта отмечена гибель 17 из 20 мышей. Величина среднесмертельной дозы DL_{50 subchr}, вычисленная с применением пробит-анализа, составляет 18250 мг/кг, коэффициент кумуляции K_{cum} равен 6,1. Внутрижелудочное введение ГЭ-АЛК в течение 30 суток (метод Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича) приводило к дозозависимой гибели крыс опытных групп II, III. У животных II опытной группы (1/5 от DL_{50 ac}) наблюдали признаки интоксикации в виде выпадения шерсти и гиперемии участков тела вокруг морды и анального отверстия. Животные данной группы демонстрировали пониженную активность, вялость, отказ от пищи и воды. За время эксперимента не отмечено гибели подопытных животных в контроле и группах, получавших ГЭ-АЛК в

дозах 440 и 110 мг/кг. Введение ГЭ-АЛК в дозе 880 мг/кг, кратной 1/10 от DL_{50 ac}, привело к единичному случаю гибели на 8-е сутки опыта, что не позволило рассчитать среднесмертельную дозу в субхроническом эксперименте DL_{50 subchr} в группе III. При введении ГЭ-АЛК в дозе 1760 мг/кг, кратной 1/5 от DL_{50 ac}, наблюдали гибель 7 из 10 особей в период на 3-11 сутки эксперимента. Таким образом, в условиях дозозависимого введения 1/5 DL_{50 ac} величина среднесмертельной дозы DL_{50 subchr} ГЭ-АЛК составляет 14000 мг/кг, а значение коэффициента кумуляции K_{cum} равно 1,6.

Функциональное состояние центральной нервной системы подопытных животных оценивали на 30-е сутки опыта по параметрам поведенческой активности и величине СПП. Введение ГЭ-АЛК вызывало изменения в поведении животных опытных групп III и IV (880 и 440 мг/кг соответственно), выражающиеся в достоверном увеличении показателя вертикальной активности и груминга. Поведение животных V опытной группы (110 мг/кг ГЭ-АЛК) по исследованным поведенческим показателям не отличалось от контроля (табл. 3). Введение ГЭ-АЛК приводило к статистически достоверному угнетению порога возбудимости крыс групп III и IV (880 и 440 мг/кг соответственно) относительно контрольной группы. У животных V опытной группы (110 мг/кг ГЭ-АЛК) не отмечено достоверных отличий по показателю СПП по сравнению с контролем (табл. 3). Дозозависимое внутрижелудочное введение ГЭ-АЛК приводило к достоверному, как правило, дозозависимому, увеличению ОКМ ряда внутренних органов у крыс опытных групп III и IV (табл. 4).

Метод «субхронической токсичности» по Lim et al. обычно применяют для оценки адаптации организма к изучаемому соединению: если K_{cum} меньше 1 - наличие кумуляции, если больше 1 - развитие привыкания [6]. Установленная величина коэффициента кумуляции 6,1 свидетельствует о способности мышей (наиболее чувствительно по величине DL_{50 ac} вида животных) адаптиро-

Таблица 2

Расчет эффективных доз по показателям поведенческой активности белых мышей при однократном внутрижелудочном введении сублетальных доз ГЭ-АЛК

Показатель поведенческой активности	Величины эффективных доз, мг/кг		
	ED ₁₆	ED ₅₀	ED ₈₄
Количество вертикальных стоек	30	160 (46-560)	860
Количество эпизодов груминга	16	73 (23-234)	340

ваться к введению массивных доз ГЭ-АЛК: величина суммарной дозы к окончанию эксперимента была кратная $13 DL_{50ac}$, а подавляющая часть летальных исходов зарегистрирована в диапазоне суммарных доз, кратных $4-13 DL_{50ac}$.

Метод дозомонотонного введения [7] позволяет получить количественную характеристику и оценить степень кумулятивности вещества для прогнозирования хронических эффектов. Величина полученного таким способом коэффициента кумуляции при введении массивной дозы, кратной $1/5$ от DL_{50ac} , составила 1,6, т.е. согласно гигиенической классификации Л.И. Медведя [8] ГЭ-АЛК относится к веществам с выражен-

ной степенью кумуляции. При этом кумулятивный эффект развивается только на фоне введения массивных доз вещества и уменьшается при снижении величины ежедневно вводимой дозы, что позволяет отнести ГЭ-АЛК к веществам I типа кумулятивного действия по классификации Ю.С. Кагана в изложении [9] и указывает на малую вероятность развития хронической интоксикации. В качестве максимально переносимой дозы МПД можно принять величину 440 мг/кг ($1/20$ от DL_{50ac}) ГЭ-АЛК, введение которой заметно ухудшало показатели состояния белых крыс группы IV, но не приводило к их гибели. У животных подопытной группы V обнаружены ми-

Таблица 3

Показатели поведения белых крыс при введении ГЭ-АЛК в субхроническом эксперименте

Группы сравнения, величины вводимых доз	Показатели поведенческой активности крыс, усл.ед, Ме[25%;75%]				СПП, вольты, М($\pm 95\%$ ДИ)
	Проход по секторам	Норковый рефлекс	Вертикальная стойка	Груминг	
I-контрольная	13,0 [7,0;31,5]	2,5[0,5;3,0]	3,0[1,5;8,0]	2,0[1,5;2,5]	4,0 (3,1-4,9)
III-опытная 880 мг/кг	27,0 [19,5;31,0]	2,5[1,0;6,0]	9,0[6,0;13,5]*	7,0[4,5;9,0]*	7,1 (6,1-8,2)*
IV-опытная 440 мг/кг	23,5 [7,0;30,5]	3,0[1,5;4,5]	7,0[4,0;12,0]	5,5[3,0;7,5]*	6,4 (5,3-7,5)*
V-опытная 110 мг/кг	19,5 [8,5;25,0]	3,0[1,5;5,5]	4,0[3,5;9,0]	2,0[0,0;7,0]	4,3 (3,4-5,1)

Примечание: * - различия статистически достоверны, $p \leq 0,05$.

Таблица 4

Относительные коэффициенты массы внутренних органов крыс при введении ГЭ-АЛК в субхроническом эксперименте, г/кг^3 , М($\pm 95\%$ ДИ)

ОКМ органов	Группы сравнения, величины вводимых доз			
	I контрольная	III-опытная 880 мг/кг	IV-опытная 440 мг/кг	V-опытная 110 мг/кг
Печень	31,5 (26,9-36,1)	45,0 (42,8-47,2)*	34,4 (32,4-36,4)	29,7 (27,5-31,8)
Почки	6,2 (5,8-6,5)	8,3 (7,5-9,0)*	7,5 (7,0-7,9)*	6,5 (6,1-6,9)
Надпочечники	0,15 (0,14-0,17)	0,2 (0,18-0,23)*	0,21 (0,2-0,24)*	0,16 (0,14-0,18)
Селезенка	4,6 (3,7-5,5)	5,8 (5,0-6,5)*	5,5 (4,9-6,2)	4,5 (3,8-5,2)
Сердце	3,5 (3,4-3,7)	4,0 (3,7-4,4)*	4,3 (4,0-4,6)*	3,6 (3,4-3,8)
Легкие	8,5 (7,5-9,4)	10,5 (9,8-11,2)*	10,4 (9,0-11,7)	10,0 (8,6-11,4)
Желудок	9,1 (8,3-9,9)	10,2 (9,3-11,1)	9,6 (9,1-10,1)	8,6 (7,8-9,3)

Примечание: * - различия статистически достоверны, $p \leq 0,05$.

нимальные отклонения изученных показателей от контрольных, что указывает на возможность использования дозы ГЭ-АЛК 110 мг/кг, кратной 1/80 от DL_{50ac} , в качестве максимальной дозы для проведения хронического эксперимента.

Выводы. 1. Гексильный эфир 5-аминолевулиновой кислоты относится к 3 классу опасности при однократном внутрижелудочном воздействии. DL_{50} ГЭ-АЛК для мышей (самцы) составляет 3000 мг/кг, для крыс (самки) – 7800 мг/кг. Порог острого действия Lim_{ac} установлен на уровне среднеэффективной дозы ED_{50} (мыши) - 73 мг/кг. Величина показателя зоны острого действия составляет 41.

2. В тесте «субхронической токсичности» по схеме *Lim et al.* обнаружена способность живот-

ных к адаптации к введению нарастающих количеств изучаемого соединения ($K_{cum}=6,1$). При использовании метода дозозмонотонного введения кумулятивный эффект развивался только на фоне поступления массивных доз ГЭ-АЛК (величина коэффициента кумуляции при введении дозы, кратной 1/5 от DL_{50ac} , составила $K_{cum}=1,6$) и уменьшался при снижении величины ежедневно вводимой дозы (вещество I типа кумулятивного действия), при этом регистрировали дозозависимые изменения в функционировании нервной системы и в состоянии массы ряда внутренних органов. Максимально переносимая доза ГЭ-АЛК для крыс в подостром опыте установлена на уровне 440 мг/кг (1/20 от DL_{50ac}).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Патент РБ № 16176 от 27.04.2012 «Способ получения гидрохлорида гексильного эфира 5-аминолевулиновой кислоты» / Тростянюк И.В., Долгопалец В.И., Кисель М.А., Ляхвич Ф.А., заявитель Государственное научное учреждение «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси», заявл. 03.12.2009.
2. Спивак С.Г., Яронская Е.Б., Вершиловская И.В., Давыдов В.Ю., Тростянюк И.В., Долгопалец В.И. Стимуляция роста и развития растений ячменя липофильными эфирами

5-аминолевулиновой кислоты. Докл. Нац. акад. наук Беларуси. 2007; Т. 51. 5: 95-99.

3. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), утв. Решением Комиссии таможенного союза от 28 мая 2010 года № 299 (Глава II; Раздел 15. Требования к пестицидам и агрохимикатам).

4. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of laboratory animal resourcens commission on life

sciences research council // National academy press. - Washington, D.C. 1996; 1: 128.

5. Бельский, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. М.Л. Бельский. Рига: Изд-во Акад.наук Латв.ССР. 1959; 115.

6. *Lim R. K., Rink K. G., Glass H. G., Soaje-Echague E.* A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1961; 130, Mar 1: 336-353.

7. *Караган Ю.С., Станкевич В.В.* Коэффициент кумуляции как количественный критерий. - В кн.: Актуальные вопросы гигиены труда, промышленной токсикологии и профессиональной патологии в нефтяной и нефтехимической промышленности. Уфа. 1964; 48-49.

8. *Медведь Л.И., Караган Ю.С., Спыну Е.И.* Пестициды и проблемы здравоохранения. Ж. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева. 1968; 13, №3: 263-271.

9. Голиков, С.Н. Общие механизмы токсического действия. С.Н. Голиков, И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов. Л. 1986; 280.

REFERENCES:

1. Trostyanko I.V., Dolgopalets V.I., Kisel' M.A., Lakhvich F.A. A process for preparing hydrochloride hexyl ester of 5-aminolevulinic acid. Patent RB, N 16176; 27.04.2012 (in Russian).

2. Spivak S.G., Yaron'skaya E.B., Verшилovskaya I.V., Davydov V.Yu., Trostyanko I.V., Dolgopalets V.I. The stimulation of plant growth and development of barley lipophilic esters of 5-aminolevulinic acid. Dokl. Nat. Acad. Sciences of Belarus. 2007; V. 51, 5: 95-99 (in Russian).

3. Edinye sanitarno-epidemiologicheskie i gigenicheskie trebovaniya k tovaram, podlezhashchim sanitarno-epidemiologicheskomu nadzoru (kontrolyu), utv. Resheniem Komissii tamozhennogo soyuza ot 28 maya 2010 goda № 299 (Glava II; Razdel 15. Trebovaniya k pestitsidam i agrokhimikatam) (in Russian).

4. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of laboratory animal resourcens commission on life sciences research council. National academy press.

Washington, D.C., 1996; 1-128.

5. Belen'kiy, M.L. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. Riga; Izd-vo Akad.nauk Latv.SSR, 1959: 115 (in Russian).

6. *Lim R. K., Rink K. G., Glass H. G., Soaje-Echague E.* A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1961; 130, Mar 1: 336-353.

7. *Kagan Yu.S., Stankevich V.V.*

Factor accumulation as a quantitative criterion. - In the book: Topical issues of occupational health, industrial toxicology and occupational diseases in the oil and petrochemical industry. Ufa. 1964; 48-49 (in Russian).

8. *Medved' L.I., Kagan Yu.S., Spynu E.I.* Pesticides and health problems. - J. Proc. chemical. Islands named. Mendeleyev. 1968; Vol. 13, 3: 263-271 (in Russian).

9. Golikov, S.N. General mechanisms of toxic action. S.N. Golikov I.V. Sanotsky, L.A. Tiunov. L., 1986: 280 (in Russian).

E.K. Vlasenko, S.I. Sychik, V.A. Stelmakh, V.A. Grynychak

FEATURES OF TOXIC EFFECT OF 5-AMINOLEVULINIC ACID HEXYL ESTER AT SINGLE AND MULTIPLE INTRAGASTRIC ADMINISTRATIONS

Republican Unitary Enterprise «Scientific and Practical Center of Hygiene», Ministry of Health of the Republic of Belarus, 220012, Minsk, Belarus

In experiments on laboratory rats and mice, features of toxic effect of a promising plant growth regulator 5-aminolevulinic acid hexyl ester (ALA-HE) were investigated under conditions of single and multiple intra gastric administration. At single intra gastric administration, a median lethal dose of ALA-HE (LD_{50ac}) is 3000 mg/kg for mice (males) and 7800 mg/kg for rats (females), specific resistivity is not expressed ($EHF < 3$). The threshold of acute effect Lim_{ac} of 73 mg/kg was established at the level of median effective dose ED_{50} (mice). The cumulation coefficient obtained according to *Lim et al* method in experiments on mice makes 6.1. In experiments on rats according to *Yu.S. Kagan and V.V. Stankevich* method, the value of the cumulation coefficient was 1.6 at exposure to 1/5-fold of LD_{50} . As a maximum tolerated dose, the value of 440 mg/kg (1/20 of LD_{50}) was adopted.

Keywords: aminolevulinic acid hexyl ester, toxicity, single exposure. cumulative properties.

Материал поступил в редакцию 25.05.2015 г.

УДК 615.099

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ КАК ОСНОВА АНАЛИЗА МНОГОФАКТОРНЫХ ХИМИЧЕСКИХ РИСКОВ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ

Б.А. Кацнельсон¹, А.Н. Вараксин²,
В.Г. Панов², Л.И. Привалова¹,
И.А. Минигалиева¹, Е.П. Киреева¹

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский
научный центр профилактики и охраны
здоровья рабочих промпредприятий»
Роспотребнадзора, 620014,

г. Екатеринбург, Российская Федерация

²ФБУН Институт промышленной экологии
УрО РАН, 620990, г. Екатеринбург,
Российская Федерация

В статье критически рассматриваются некоторые постулаты теории и математического моделирования комбинированного токсического действия и предлагается дальнейшее их развитие. С этой целью были проанализированы результаты экспериментов на крысах, подвергавшихся повторным внутрибрюшинным введениям нескольких бинарных и одной трёхфакторной комбинации химических веществ, главным образом, солей токсичных металлов или металлосодержащих наночастиц. Интоксикации количественно характеризовались десятками функциональных, биохимических и морфометрических показателей. Для описания комбинированной токсичности мы опирались как на описательную статистику результатов, рассматриваемую с позиций обычной логики, так и на две математические модели, основанные на дисперсионном анализе (ANOVA) и на математической теории поверхности отклика, которые соотносятся с широко признанными парадигмами теории комбинированной токсичности: соответственно, аддитивности эффектов и аддитивности доз. Мы пришли к заключению, что названные парадигмы фактически взаимозаменяемы и должны бы рассматриваться скорее как разные методы моделирования комбинированной токсичности, чем как отражение фундаментально различающихся процессов. Мы отдаём предпочтение регрессионному построению поверхности отклика с учетом конкретного плана эксперимента, поскольку она инвариантна по отношению к этим парадигмам.

В рамках математической модели существуют не только три традиционно обозначаемых типа комбинированной токсичности (аддитивность, субаддитивность и супераддитивность), но большое число вариантов её в зависимости от рассматриваемого эффекта, его уровня, а также от уровня доз и их соотношения. Особое внимание уделено моделированию противоположно направленных эффектов токсических веществ. Подчёркивается целесообразность выделения основного (определяющего) типа комбинированной токсичности и предложены критерии его выбора.

Для характеристики трёхфакторной токсичности был предложен новый риск-ориентированный подход, сущность которого составляет классификация эффектов по признаку того, остаётся ли тип бинарной комбинированной токсичности по сути тем же самым или становится либо более, либо менее неблагоприятным, когда анализируется на фоне действия третьего токсичного вещества.

Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), д.м.н., профессор, заведующий отделом токсикологии и биофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация, bkaznelson@etel.ru

Вараксин Анатолий Николаевич (Varaksin Anatoliy Nikolayevich), д. ф.-м.н. проф, главный научный сотрудник лаборатории математического моделирования в экологии и медицине Института промышленной экологии, 620990, г. Екатеринбург, Российская Федерация, varaksin@esko.uran.ru

Панов Владимир Григорьевич (Panov Vladimir Grigoryevich), к. ф.-м. н., зав. лабораторией математического моделирования в экологии и медицине Института промышленной экологии, 620990, г. Екатеринбург, Российская Федерация, panov@esko.uran.ru

Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), д.м.н., профессор, заведующая лабораторией научных основ биофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация, privaloval@yandex.ru

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), к.б.н., заведующая лабораторией промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация, ilzira-minigalieva@yandex.ru

Киреева Екатерина Петровна (Kireyeva Ekaterina Petrovna), к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация, katerinakir@yandex.ru

Вкратце обсуждено значение вышеописанных заключений в рамках системы анализа и управления рисками для здоровья.

Ключевые слова: *комбинированная токсичность, анализ риска, изоболограммы.*

Введение. Однофакторные токсические экспозиции являются (за пределами предмета судебной токсикологии) скорее исключением, в то время как многофакторные – правилом. Это обуславливает актуальность оценки суммарных химических рисков для здоровья человека, научной основой, которой должна являться адекватная характеристика типа комбинированной токсичности (КТ). Проблема эта, несмотря на опубликованное на протяжении десятков лет большое число работ, ей посвящённых, далека не только от разрешения, но даже от единообразного понимания.

Необходимо отметить, что подавляющее число этих исследований посвящено изучению комбинаций двух и только малое – трёх или большего числа веществ, а современный понятийный аппарат в этой области реально применим только к бинарной КТ. Как мы покажем ниже, это может быть объяснено тем, что с увеличением числа веществ, действующих в комбинации, крайне усложняется не только задача экспериментального и математического моделирования и оценки КТ, но и её однозначная характеристика тем или иным термином, обозначающим тип КТ. Эта важная ограниченность располагаемой фактической базы и теории КТ может рассматриваться не только как объективно обусловленная, но и как вполне допустимая, поскольку оценка типа действия на организм даже только тех или иных пар веществ, входящих в реальную многофакторную комбинацию, является несомненным шагом вперёд от изолированной оценки действия каждого из них. К тому же, в такой реальной комбинации из большого числа факторов нередко может быть выделено два-три приоритетных, ориентируясь на класс их опасности и количественное преобладание в комбинации.

Существенно более важным недостатком изученности проблемы КТ является то, что большинство исследований проведено в отношении острой токсичности, которая оценивалась одним (например, летальным) эффектом, а оценке полисистемной хронической или хотя бы субхронической КТ по большому числу показателей посвящено лишь небольшое число работ. Поэтому полученные оценки ти-

па КТ недостаточны для имеющих основное значение в рамках профилактической токсикологии умеренных и даже слабых воздействий, угрожающих развитием хронических интоксикаций, для которых характерны полисистемность и взаимообусловленность эффектов. То, что при этом типы КТ могут быть не одинаковыми по отношению к разным эффектам, выявляется практически всегда, когда этот аспект проблемы исследуется (например, [1]), но таких исследований всё ещё мало, их теоретическое обобщение недостаточно, а практические выводы из них (в том числе в свете задач санитарного нормирования и оценки риска) не ясны¹.

К некоторым суждениям в этой области позволяет прийти рассматриваемый в совокупности с литературными данными наш собственный опыт экспериментального изучения и математического моделирования субхронической КТ при действии солей фтора и свинца [4], кадмия и свинца [5], марганца и никеля [6], марганца и хрома [6], никеля и хрома [6,7], марганца, никеля и хрома вместе [6], свинца и нафталина [8] а также оксидов марганца и никеля в форме наночастиц [9].

Основные понятия и их противоречивость. В современной токсикологии в качестве основного обозначения типа КТ обычно используется термин «аддитивность» (т.е. способность к сложению), а отклонения от этого типа, в зависимости от их направленности, обозначаются терминами «супераддитивность» (синонимы: «потенцирование», «синергизм») и «субаддитивность». Последняя нередко рассматривается как синоним более распространённого понятия «антагонизм», однако ниже будет показано, что оно имеет более широкий смысл.

Вместе с тем, смысл, вкладываемый разными авторами и разными документами в каждый из этих терминов, начиная с основного понятия аддитивности, различен в зависимости от явной или подразумеваемой приверженности определённым теоретическим представлениям, которые складываются на базе двух основных парадигм [11-16].

Первая из них принимает, что существует особый класс КТ, при которой определённый

¹ Авторы хотели бы подчеркнуть, что в их намерения не входит недооценка существенного вклада, внесенного в изучение хронической комбинированной токсичности давними, но не потерявшими значения работами отечественных исследователей, например, обобщёнными в [2, 3]. Однако в этих работах почти не применялся математический анализ и нередко использовались недостаточно чёткие термины для обозначения типов КТ, что не позволяет ссылаться на них в узких рамках настоящей статьи.

эффект разных веществ, входящих в комбинацию, обусловлен разными биологическими точками приложения и/или разными механизмами токсического действия. Поэтому эффект каждого вещества, входящего в комбинацию, может развиваться якобы независимо от одновременного развития того же самого эффекта других её составляющих, так что суммарный эффект комбинированного действия оказывается равным сумме всех эффектов изолированного действия этих составляющих – так называемая «аддитивность эффектов». При этом каждый такой изолированный эффект пропорционален дозе конкретного вещества с независимым от других коэффициентом пропорциональности (регрессии). При наличии же некоторого явного или скрытого взаимовлияния эффектов комбинируемых веществ суммарный эффект может оказаться выше или ниже указанной суммы эффектов на определённую величину, зависящую от этого взаимовлияния. Такое скрытое взаимовлияние нередко связано с изменением токсикокинетики одного яда под влиянием другого, как показано, например, в случаях комбинации свинца и нафталина [8] или никеля и хрома [9].

Общим математическим выражением сказанного служит уравнение:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n + b_{12}x_1x_2 + \dots + b_{(n-1)n}x_{n-1}x_n + \dots + b_{12\dots n}x_1x_2\dots x_n \quad (1)$$

которое для простейшего и чаще всего рассматриваемого случая бинарной КТ принимает вид:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 \quad (2)$$

Здесь y есть величина рассматриваемого показателя состояния организма при действии токсической комбинации, b_0 – его величина вне такого действия, x_i – доза каждого из n веществ, составляющих комбинацию, b_i – соответствующий коэффициент регрессии для изолированного действия этого вещества, а члены общего вида $b_{12\dots n}x_1x_2\dots x_n$ (для бинарной КТ – только $b_{12}x_1x_2$) соответствуют дозо-зависимому влиянию взаимодействия эффектов. Если последнее несущественно, то эти комбинационные (т.н. «перекрестные») члены уравнения значимо не отличаются от нуля, и уравнение выражает аддитивность эффектов. При супер- или субаддитивности эффектов комбинационный член уравнения имеет, соответственно, положительное или отрицательное значение, то есть эффект комбинации оказывается выше или ниже суммы эффектов, что

означает супер- или субаддитивность.

Однако чем больше веществ входит в комбинацию, тем выше вероятность того, что среди многих перекрестных членов $b_{12\dots n}x_1x_2\dots x_n$ окажутся как нулевые, так и отличающиеся от нуля, но с разными знаками. Практически невозможно найти адекватные термины, которые недвусмысленно определяли бы, какой тип КТ имеет место в подобных случаях. Именно поэтому понятие аддитивности эффектов и производные от него понятия супер- и субаддитивности реально применимы только к описанию типа бинарной КТ.

Но и в этом случае возникают сложности толкования даже уравнения (2), если речь идёт об эффекте, по которому действие комбинируемых веществ является противоположно направленным. В этом случае уравнение (2) принимает вид: $y = b_0 + b_1x_1 - b_2x_2 + b_{12}x_1x_2$, то есть даже при нулевом значении перекрестного члена алгебраическое суммирование двух эффектов означает арифметическое вычитание одного из другого, и формальная аддитивность КТ оказывается токсикологическим антагонизмом. Ещё больше запутывается смысл традиционной терминологии, если при противоположном действии токсических веществ перекрестный член отличен от нуля.

Таким образом, эта терминология является однозначной только для характеристики бинарной КТ по однонаправленным эффектам. В более общем случае некоторое уточнение в неё может внести различие между «явным антагонизмом» (под которым предлагается понимать противоположную направленность действия двух токсичных веществ по тому или иному эффекту) и «скрытым антагонизмом», который проявляется субаддитивностью однонаправленных эффектов. Явный антагонизм иногда называют функциональным [17].

Вторая распространённая парадигма теории КТ принимает, что два или более веществ, входящих в комбинацию, имеют одну и ту же точку приложения и один и тот же механизм действия, отличающегося только по силе. Иными словами, они действуют, как действовало бы одно и то же вещество в разных дозах, что исключает рассмотрение какого-либо взаимодействия эффектов. Основным типом КТ в этом случае также является аддитивность, которая (в отличие от рассмотренной выше «аддитивности эффектов») обозначается как «аддитивность доз» или, по имени автора [18], впервые сформулировавшего рассматриваемую парадигму, как «аддитивность Лёве».

Эта парадигма имеет привлекательно простое и кажущееся непосредственно примени-

мым к практике санитарного нормирования математическое выражение. Если речь идёт о КТ веществ А и В в дозах d_A и d_B , а D_A и D_B являются изоэффективными, т.е. равносильными дозами этих веществ по определённому эффекту действия (например, равными долями от их ЛД₅₀), то заданная величина соответствующего эффекта будет получена от их комбинированного воздействия в разных соотношениях при соблюдении условия:

$$(d_A / D_A) + (d_B / D_B) = 1.0. \quad (3)$$

Если же это равенство не соблюдается, то есть для получения заданной величины эффекта потребуется сумма отношений фактических доз к изоэффективным, которая либо >1.0 , либо <1.0 , то это свидетельствует об антагонизме или синергизме доз, соответственно.

Общепринятым является графическое выражение этих зависимостей с помощью так называемых изоболограмм Лёве, построенных в осях d_A / D_A и d_B / D_B таким образом, что получаемая линия (изоболола) является геометрическим местом точек, соответствующих заданной величине эффекта. Прямая линия, соединяющая указанные оси между точками $d_A=0$ и $d_B=0$, получается при полной аддитивности доз; лежащая выше прямой («выпуклая») кривая линия – при субаддитивности доз; лежащая ниже прямой («вогнутая») кривая линия – при супераддитивности доз. Нередко тип КТ различен в разных дозовых диапазонах, чему соответствует двухфазная или даже трёхфазная изоболола [19]. Необходимо подчеркнуть, что, как и в рамках ранее рассмотренной парадигмы аддитивности эффектов, такая самоочевидная содержательная трактовка аддитивности доз возможна только для КТ веществ, обладающих действием, однонаправленным по оцениваемому эффекту.

Практика применения традиционных понятий комбинированной токсичности в области оценки риска и санитарного нормирования.

В то время как теоретическое разграничение между вышерассмотренными парадигмами КТ распространено широко и редко подвергается критическому обсуждению, существенная путаница при их практическом использовании наблюдается не только в некоторых научных публикациях, но и в ряде документов международного и национального уровня.

Так, основные типы КТ были сформулированы в 1981 году специальной экспертной группой ВОЗ в точном соответствии с парадигмой аддитивности эффектов, не упоминая об альтернативной [20], но уже в 1992 году так называемое Саарисельское соглашение рекомендовало использовать как аддитивность эффектов, так и аддитивность доз [21]. В 2009 году отчёт международной рабочей группы ВОЗ по оценке комбинированных химических воздействий [22], подтвердил распространённый взгляд на принципиальное различие между двумя парадигмами, но в то же время проиллюстрировал их смешение. В частности, говоря о синергизме и антагонизме, как об «отклонениях от аддитивности доз», отчёт расшифровывает это понятие в терминах аддитивности эффектов.

Методология оценки рисков для здоровья, которая принята или официально рекомендована во многих странах, предполагает характеристику многофакторного риска того или иного нарушения здоровья, вызванного комбинированными вредными экспозициями населения, как суммы однофакторных рисков. Если речь идёт о суммировании канцерогенных и некоторых других рисков, определяемых как вероятность возникновения или как дополнительное число случаев заболевания, то сложение этих величин согласуется с парадигмой аддитивности эффектов (точнее, ответов)². Однако и для суммарной характеристики многофакторных не канцерогенных рисков используется так называемый индекс опасности (HI – «hazard index»), представляющий собой сумму коэффициентов опасности (HQ – «hazard quotients») обособленных вредных веществ, то есть отношений оцененных доз этих веществ к соответствующим референтным. Этот расчёт внешне сходен с математическим выражением аддитивности доз (см. уравнение 3), но на самом деле не имеет с ним ничего общего как потому, что референтные дозы (RfD) разных веществ не являются изоэффективными, так и потому, что получаемая величина HI может быть больше или меньше, чем 1,0, но это вовсе не говорит об отклонении от аддитивности доз.

В ряде стран (в том числе, в России и США) очень давно оценка соответствия уровней многокомпонентного загрязнения воздуха рабочих помещений, а иногда и других объектов среды нормативным требованиям (в России – ПДК) или рекомендациям (имеющим разное наименование в разных странах) проводится

² Этот частный случай реализации первой парадигмы КТ, описываемой для бинарной комбинации веществ математическим выражением $P(A,B) = P(A) + P(B) - P(A)P(B)$, где P – доля объектов воздействия вещества А или В или их комбинации А,В, им поражённая, давно известен как независимость Блисса [23] – термин, который нередко применяется ошибочно для обозначения данной парадигмы в целом.

по соблюдению или несоблюдению равенства: $C_1/ПДК_1 + C_2/ПДК_2 + C_3/ПДК_3 + \dots + C_n/ПДК_n = 1$ (4)

- где C_i фактически наблюдаемые концентрации каждого из n веществ.³

Основой такого подхода, несомненно, является парадигма аддитивности доз, однако и в этом случае следует помнить, что ПДК для разных веществ в силу методологии и истории их обоснования не могут рассматриваться как изоэффективные концентрации. Для некоторых конкретных случаев синергизма действия двух загрязнителей (независимо от того, что характер их КТ оценивался в экспериментах путём сравнения не изоэффективных доз, а эффектов при заданных дозах) иногда принимается, что рассматриваемая сумма должна быть $<1,0$, но насколько именно меньше, решается произвольно.

Основные положения, вытекающие из сопоставления литературных данных и собственных экспериментов по изучению субхронической бинарной токсичности.

В наших экспериментальных исследованиях, перечисленных в начале статьи, состояние организма у лабораторных крыс параллельно оценивалось с помощью 40-50 биохимических, функциональных и морфометрических показателей, имеющих как интегральный, так и специфический характер, в следующих группах животных: (а) при отсутствии токсических воздействий, (б) при обособленном воздействии каждого из изучаемых веществ в дозах, как правило, изоэффективных по острому летальному эффекту (чаще всего, равных или близких к $0,05$ ЛД₅₀), (в) нередко также при воздействии половинных от указанных доз; (г) при комбинированном воздействии этих веществ во всех сочетаниях соответствующих доз.

Оценка типа КТ проводилась по каждому из измеренных эффектов как на основе простой логики (здорового смысла) путём межгруппового сопоставления средних величин, так и с помощью разных математических моделей, соответствующих парадигмам аддитивности эффектов (дисперсионный анализ – ANOVA), аддитивности доз (математическая теория планирования экспериментов) или объединяющих обе идеи (метод построения поверхности отклика) [24].

Обобщение всех полученных результатов анализа свидетельствует о следующем:

Принципиальных расхождений между выводами, полученными при разных подходах,

не наблюдалось, что позволяет считать названные парадигмы отражающими скорее способ математического моделирования КТ, чем какие бы то ни было фундаментальные различия механизмов токсического действия разных комбинаций, хотя именно они, как было указано выше, составляют сущность этих парадигм.

В рамках обеих парадигм реально отмечаются не только рассмотренные выше три типа КТ (аддитивность, синергизм, антагонизм), но и различные варианты и сочетания этих типов в зависимости от того, о каком именно эффекте токсического действия идёт речь, а также от величины этого эффекта, от уровня и соотношения доз. При действии одной и той же пары токсических веществ можно было реально наблюдать не менее 5, а в некоторых случаях до 10 таких вариантов.

Как уже указывалось, для комбинаций, в которых наблюдается противоположно направленное влияние токсических веществ на те или показатели состояния организма, использование трёх традиционных типологических терминов встречается с серьёзными затруднениями интерпретации и создаёт искусственные противоречия между математическими оценками КТ и её логической оценкой токсикологом и гигиенистом. Методология анализа, основанная на сравнении наблюдаемого эффекта с поверхностью отклика при нулевом взаимодействии даёт математическое описание типа КТ при любой направленности действия [6].

Пример экспериментальной оценки и математического моделирования бинарной КТ.

В эксперименте, построенном по описанному выше типичному дизайну, изучалась КТ никеля (в форме $NiCl_2$) и марганца (в форме $KMnO_4$).

Анализ результатов, проведенный на базе уравнения (2) (с использованием метода построения поверхности отклика для построения изоболограмм) выявил по разным эффектам:

- аддитивность однонаправленного действия;
- супераддитивность однонаправленного действия;
- субаддитивность однонаправленного действия;
- супераддитивность действия, однонаправленного при одних дозах и противонаправленного при других;
- супераддитивность и субаддитивность в зависимости от уровня эффекта.

³ В отечественной гигиенической литературе это уравнение традиционно называется «формулой Аверьянова», но нам, к сожалению, не удалось найти ни первоисточника, ни хотя бы ссылки на него.

Рисунок 1 иллюстрирует первые три варианта КТ, соответствующие трём традиционным терминам, а рисунок 2 – остальные, более сложные варианты.

Понятие основного типа бинарной комбинации токсичности.

Вскрытие многообразия типов КТ при взаимодействии одной и той же пары токсических веществ даёт важную информацию, в частности, для понимания и прогнозирования клинической картины соответствующих интоксикаций, но для использования этой информации в практических целях оценки и управления рисками обобщающая качественная оценка каждой изученной комбинации должна

быть более или менее однозначной. Однако мы убеждены, что стремиться к такой однозначности следует не по пути упрощения этой проблемы, чреватой серьёзными ошибками, а, напротив, на базе как можно более полного понимания её сложности. Решить эту задачу позволяет введение дополнительного понятия «основной» или «определяющей» тип КТ [19].

Выбор основного из всех вариантов КТ, обнаруживаемых в экспериментах с конкретной бинарной комбинацией токсических веществ, может опираться на ряд критериев:

превалирующее значение того типа КТ, который характерен для низких доз;
в тех случаях, в которых рассматриваемая

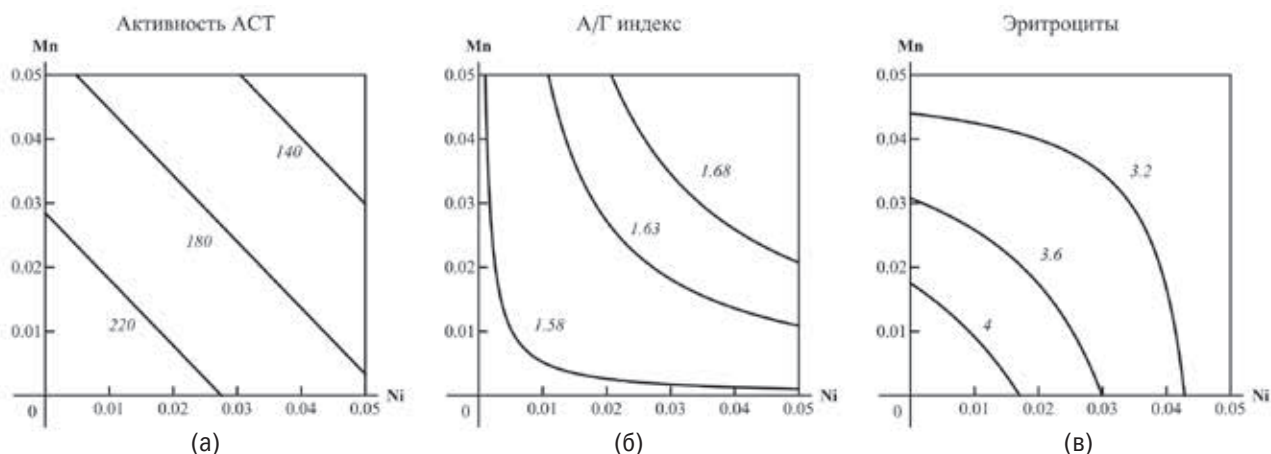


Рис. 1. Примеры изоболограмм для трёх типов КТ никеля и марганца, соответствующих традиционным определениям (а) аддитивности, (б) супераддитивности (синергизма) и (в) субаддитивности (антагонизма) односторонних эффектов. На осях координат – дозы металлов в долях соответствующих ЛД₅₀; числа над изоболограммами – заданные уровни эффекта, к которым эти изоболы относятся.

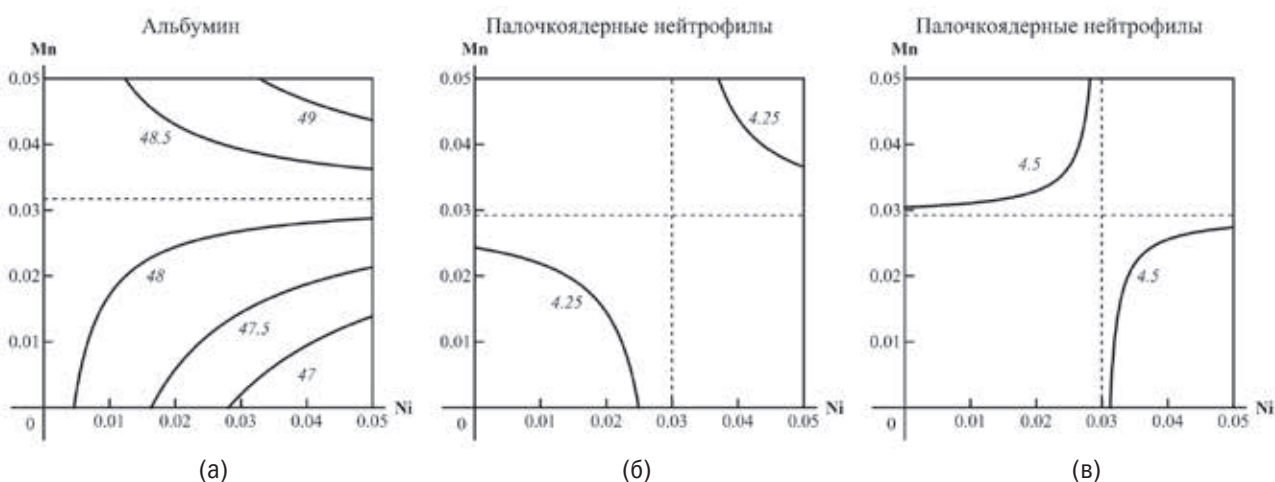


Рис. 2. Примеры изоболограмм для некоторых субвариантов типа КТ никеля и марганца: (а) субаддитивность противоположенного действия на низких уровнях эффекта и супераддитивность одностороннего действия – на высоких уровнях того же эффекта; (б) одна из ветвей изоболограммы, соответствующая высокому уровню эффекта и демонстрирующая одностороннее действие металлов, которое является субаддитивным при низких дозах, но супераддитивным при более высоких; (в) другая ветвь той же изоболограммы, соответствующая низкому уровню того же эффекта и демонстрирующая противоположенное действие металлов, причём зависимость типа КТ от дозового диапазона обратная по сравнению с (б). Числовые обозначения те же, что на рисунке 1.

комбинация в реальных условиях встречается, главным образом, в узком диапазоне соотношений между её компонентами – преобладающее значение того типа КТ, который характерен для этого диапазона;

в тех случаях, в которых известны критические органы и системы организма, играющие наибольшую роль в токсикодинамике и/или токсикокинетике данной комбинированной интоксикации – преобладающее значение того типа КТ, который характерен для эффектов, связанных с действием на эти органы и системы;

в тех случаях, в которых хотя бы одно из веществ, входящих в комбинацию, относится к высоко опасным (в особенности, когда оно обладает генотоксичностью, канцерогенностью, репродуктивной токсичностью) – преобладающее значение того типа КТ, который характерен для соответствующих эффектов.

Подход к анализу КТ трёхфакторных комбинаций.

При рассмотрении уравнения (1) было подчёркнуто, что при воздействии многофакторных комбинаций сохраняется значение тот же самый анализ КТ для каждого из бинарных сочетаний, вычлняемых из этих комбинаций, но прямое использование методологии такого же анализа на базе этого уравнения и основанной на нём классификации типов КТ для однозначной характеристики всей многофакторной комбинации в целом оказывается практически невозможным даже тогда, когда этих факторов только три.

Для таких трёхфакторных токсических комбинаций нами был предложен и успешно апробирован на примере КТ никеля, марганца и хрома [6] двухэтапный анализ. На первом этапе оцениваются все варианты КТ для каждого из трёх бинарных сочетаний (в данном случае: Mn+Ni, Mn+Cr, Ni+Cr), а на втором – все эффекты токсического воздействия классифицируют-

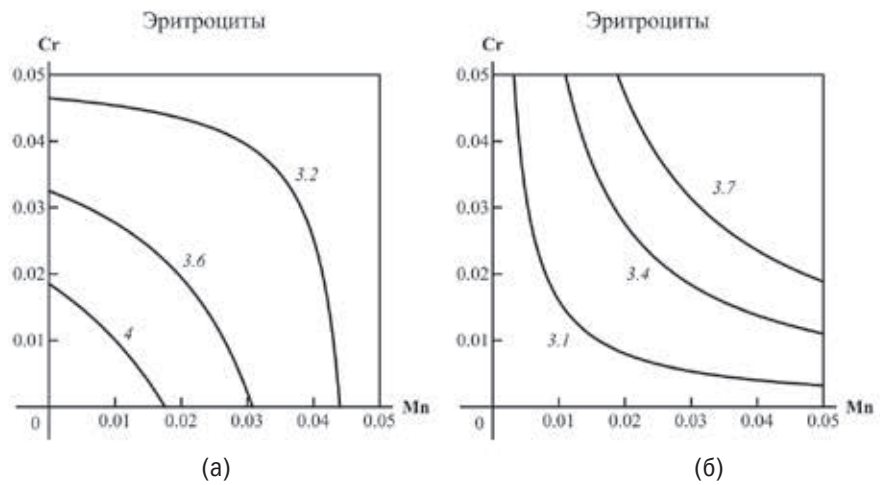


Рис. 3. Изоболограммы комбинированного действия марганца и хрома, оцениваемого по снижению числа эритроцитов: (а) в отсутствии третьего металла (субаддитивность), (б) на фоне одновременного действия никеля в дозе 0,05 ЛД₅₀ (супераддитивность). Числовые обозначения те же, что на рисунке 1.

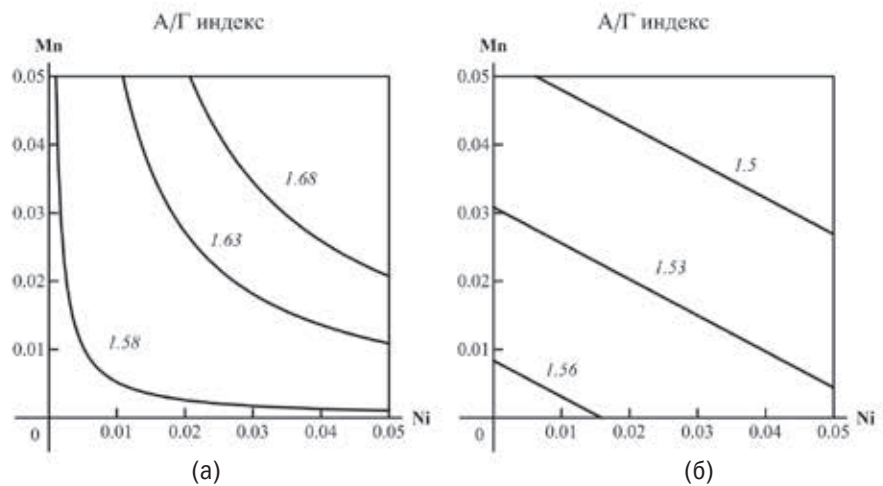


Рис. 4. Изоболограммы комбинированного действия марганца и никеля, оцениваемого по снижению коэффициента А/Г: (а) в отсутствии третьего металла (супераддитивность), (б) на фоне одновременного действия хрома в дозе 0,05 ЛД₅₀ (аддитивность). Числовые обозначения те же, что на рисунке 1.

ся в зависимости от того, оказывается ли на фоне действия третьего фактора тип одной и той же бинарной КТ более неблагоприятным для организма (класс А – пример дан на рисунке 3), менее неблагоприятным для организма (класс В – пример на рисунке 4) или остаётся существенно не изменившимся (класс С). Предварительно принимается, какие именно изменения типов КТ определяют эти классы.

Была показана удовлетворительная стабильность этой классификации, которая хорошо воспроизводилась при рассмотрении один за другим всех трёх токсичных металлов в качестве фонового фактора, притом что вероятность случайности такого воспроизведения оценивалась как чрезвычайно низкая. Таким образом, для абсолютного большинства эф-

фектов эта классификация оказалась внутренней непротиворечивой.

Легко заметить, однако, что уже при увеличении числа факторов до 4-х и этот подход к классификации КТ реально не осуществим. Для таких многофакторных смесей пока наиболее целесообразно отказаться от попыток охарактеризовать в целом сложную картину взаимодействия всех факторов, а при хотя бы относительно постоянном соотношении между компонентами – просто рассматривать каждую практически значимую смесь как особое вещество и оценивать эффекты его действия на организм, их зависимость от дозы, безопасные уровни воздействия, эффективность биопротекторов и т. д.

Учёт типа КТ бинарных и трёхфакторных комбинаций при обосновании некоторых решений в сфере анализа рисков.

Выше уже были упомянуты некоторые способы количественного учёта типа КТ при решении задач оценки экспозиции многокомпонентных загрязнений среды и оценки многофакторных химических рисков для здоровья, предлагаемые в официальных документах национального и международного уровней, и были отмечены существенные неопределённости этих способов и тех допущений, на которых они основаны. Дополнительно к этому можно указать на ещё один заведомо не количественный, но, тем не менее, важный аспект практического использования результатов изучения КТ в рамках системы анализа и управления рисками [6].

Оценивая суммарный многофакторный риск общепринятым способом суммирования однофакторных, экспертиза должна принимать во внимание то, что если токсикологическими исследованиями был доказан синергизм токсического действия двух факторов по эффектам, которые могут быть отнесены к основным для определения типа КТ, или если при оценке трёхфакторной КТ такие основные эффекты были отнесены к классу А по рассмотренной выше методике, то указанный стандартный приём суммирования недооценивает суммарный риск. Если же основным типом бинарной КТ является субаддитивность, а основные эффекты трёхфакторной КТ отнесены к классу В, то простое суммирование однофакторных рисков, вполне вероятно, даёт более или менее завышенную оценку многофакторного.

В первом случае рекомендуется считать, что предлагаемые сценарии управления риском должны быть, насколько это осуществимо, наиболее радикальными. Так, например, в расчёт потребных воздухообменов производственного помещения и в проектирование других технических способов снижения ингаляционных экспозиций, учитывающий равенство 4 (основанное на допущении аддитивности доз), должен быть внесён дополнительный запас надёжности.

Что же касается второго случая, то он позволяет рассчитывать на уже имеющийся запас надёжности профилактических мер, нацеленных на достаточную защиту от аддитивной токсичности (но, разумеется, не даёт оснований к их ослаблению).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ATSDR Interaction profile for: arsenic, cadmium, chromium, and lead. agency for toxic substances and disease registry. Atlanta: U.S. Department of Health & Human Services; 2004.
2. Кустов В. В., Тиунов Л. А., Васильев Г. А. Комбинированное действие промышленных ядов. М.: Медицина; 1975.
3. Толоконцев Н. А., Филов В. А., ред. Основы общей промышленной токсикологии. Л.: Медицина; 1976.
4. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A. N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead-fluoride combination). Toxicology reports. 2015; 2: 297-3
5. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. Food and Chem. Toxicol. 2014; 64: 144-1
6. Katsnelson B.A. Panov V.G., Minigaliyeva I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V. et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three-factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). Toxicology. 2015; 334: 33-44.
7. Minigaliyeva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Panov V.G., Varaksin A.N. et al. Toxicodynamic and toxicokinetic descriptors of combined chromium (VI) and nickel toxicity. Int. J. Toxicol. 2014; 33 (6): 498-505.
8. Katsnelson B.A., Minigaliyeva I.A., Degtyareva T.D., Privalova L.I., Beresneva T.A. Does a concomitant exposure to lead influence unfavorably the naphthalene subchronic toxicity and toxicokinetics? Environmental Toxicology & Chemistry. 2014; 33: 152-157.
9. Кацнельсон Б. А., Минигалиева И. А., Привалова Л. И., Сутункова М. П., Гурвич В. Б., Шур В. Я., Шишкина Е. В., Вараксин А. Н., Панов В. Г. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и её ослабление биопротекторной премедикацией. Токсикологический Вестник. 2014; 6: 8-14.
10. Berenbaum M.C. The expected effect of a combination of agents: the general solution. J. Theoretical Biol. 1985; 114: 413-431.
11. European Commission, Directorate-General for Health and Consumers. Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. 2012
12. Groten J.P., Feron V.J., Sühnel J.S. Toxicology of simple and complex mixtures. Trends in Pharmacological Sciences. 2001; 22: 316-322.
13. IPCS. International Programme on Chemical Safety. Assessment of combined exposures to multiple chemicals: Report of a WHO/IPCS International Workshop on aggregate/cumulative risk assessment. Geneva, World Health Organisation; 2009.
14. Box G.E.P., Draper N.R. Response Surfaces, Mixtures, and Ridge Analyses. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.; 2007.
15. Tallarida R.J. Drug synergism: its detection and applications. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001; 298 (3): 865-872.
16. Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson-Cook C.M. Response Surface Methodology. Process and Product Optimization Using Designed Experiments, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2009.
17. Timbrell J. Principles of Biochemical Toxicology, 3rd ed. Taylor & Francis Ltd.; 2000.
18. Loewe S. The problem of synergism and antagonism of combined drugs. 19. Arzneimittelforschung. 1953; 3: 285-2
20. Кацнельсон Б. А. Комбинированное действие химических веществ. В кн.: Курляндский Б. А., Филов В. А., ред. Общая токсикология. М.: Медицина; 2002: 497-520.
21. WHO Health Effects of Combined Exposures in the Work Environment. Geneva: World Health Organisation; 1981.
22. Greco W., Unkelbach H.D., Pösch G., Sühnel J., Kundi M., Bödeker W. Consensus on concepts and terminology for combined-action assessment: The Saariselkä Agreement. Arch. Complex Environ. Studies. 1992; 4: 65-69.
23. Meek M.E., Boobis A.R., Crofton K.M., Heinemeyer G., Kleiner J., Lund B.-O. et al. Assessment of combined exposures to multiple chemicals. In: Assessment of cumulated exposures to multiple chemicals. Report of a WHO/IPCS International Workshop. Geneva: World Health Organisation; 2009: 11-16.
24. Bliss C.I. The toxicity of poisons applied jointly. Ann. Appl. Biol. 1939; 26: 585-615.
25. Sühnel J. Zero interaction response surfaces, interactions functions and difference response surfaces for combinations of biologically active agents. Arzneimittelforschung. 1992; 42: 1251-1258.

REFERENCES:

1. ATSDR Interaction profile for: arsenic, cadmium, chromium, and lead, agency for toxic substances and disease registry. Atlanta: U.S. Department of Health & Human Services; 2004.
2. Kustov V.V., Tiunov L.A., Vasilyev G.A. A combined action of industrial poisons. Moscow, "Medicina" Publishing House; 1975 (in Russian).
3. Tolokontsev N.A., Filov VA. (eds). Foundations of the general industrial toxicology. Leningrad, "Medicina" Publishing House; 1976 (in Russian).
4. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A. N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead-fluoride combination). Toxicology reports. 2015; 2: 297-3
5. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. Food and Chem. Toxicol. 2014; 64: 144-1
6. Katsnelson B.A. Panov V.G., Minigaliyeva I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V. et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three-factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). Toxicology. 2015; 334: 33-44.
7. Minigaliyeva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Panov V.G., Varaksin A.N. et al. Toxicodynamic and toxicokinetic descriptors of combined chromium (VI) and nickel toxicity. Int. J. Toxicol. 2014; 33 (6): 498-505.
8. Katsnelson B.A., Minigaliyeva I.A., Degtyareva T.D., Privalova L.I., Beresneva T.A. Does a concomitant exposure to lead influence unfavorably the naphthalene subchronic toxicity and toxicokinetics? Environmental Toxicology & Chemistry. 2014; 33: 152-157.
9. Katsnelson B.A., Minigaliyeva I.A. Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.B., Shishkina E.V., Varaksin A.N., Panov V.G. Lower airways response in rats to a single or combined intratracheal instillation of manganese and nickel nanoparticles and its attenuation with a bio-protective pre-treatment. Toksikol Vestnik, 2014; No6: 8- 14 (in Russian)
10. Berenbaum M.C. The expected effect of a combination of agents: the general solution. J. Theoretical Biol. 1985; 114: 413-431.
11. European Commission, Directorate-General for Health and Consumers. Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. 2012
12. Groten J.P., Feron V.J., Sühnel J.S. Toxicology of simple and complex mixtures. Trends in Pharmacological Sciences. 2001; 22: 316-322.
13. IPCS. International Programme on Chemical Safety. Assessment of combined exposures to multiple chemicals: Report of a WHO/IPCS International Workshop on aggregate/cumulative risk assessment. Geneva, World Health Organisation; 2009.
14. Box G.E.P., Draper N.R. Response Surfaces, Mixtures, and Ridge Analyses. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.; 2007.
15. Tallarida R.J. Drug synergism: its detection and applications. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001; 298 (3): 865-872.
16. Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson-Cook C.M. Response Surface Methodology. Process and Product Optimization Using Designed Experiments, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2009.
17. Timbrell J. Principles of Biochemical Toxicology, 3rd ed. Taylor & Francis Ltd.; 2000.
18. Loewe S. The problem of synergism and antagonism of combined drugs. 19. Arzneimittelforschung. 1953; 3: 285-2
20. Katsnelson, B.A. (2002). The combined action of chemicals. In: «General Toxicology», (Kurlyandsky B.A., Filov V.A., Eds), Moscow : "Meditsina" Publishing House, pp. 497-520 (in Russian).
21. WHO Health Effects of Combined Exposures in the Work Environment. Geneva: World Health Organisation; 1981.
22. Greco W., Unkelbach H.D., Pösch G., Sühnel J., Kundi M., Bödeker W. Consensus on concepts and terminology for combined-action assessment: The Saariselkä Agreement. Arch. Complex Environ. Studies. 1992; 4: 65-69.
23. Meek M.E., Boobis A.R., Crofton K.M., Heinemeyer G., Kleiner J., Lund B.-O. et al. Assessment of combined exposures to multiple chemicals. In: Assessment of cumulated exposures to multiple chemicals. Report of a WHO/IPCS International Workshop. Geneva: World Health Organization; 2009: 11-16.
24. Bliss C.I. The toxicity of poisons applied jointly. Ann. Appl. Biol. 1939; 26: 585-615.
25. Sühnel J. Zero interaction response surfaces, interactions functions and difference response surfaces for combinations of biologically active agents. Arzneimittelforschung. 1992; 42: 1251-1258.

B.A. Katsnelson¹, A.N. Varaksin², V.G. Panov², L.I. Privalova¹, I.A. Minigaliyeva¹, E.P. Kireyeva¹

EXPERIMENTAL MODELING AND MATHEMATICAL DESCRIPTION OF THE CHRONIC COMBINED TOXICITY AS A BASIS OF MULTI-FACTOR CHEMICAL HEALTH RISKS ANALYSIS

¹The Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, 620014, Ekaterinburg, Russian Federation

²Institute of Industrial Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620990, Ekaterinburg, Russian Federation

Some postulates of the theory and mathematical modeling of combined toxic effect are considered critically and their further development is suggested. To this end, results of experiments on rats exposed to repeated intraperitoneal injections of several binary and a three-factorial combination of chemicals, mostly toxic metals salts or metal-containing nanoparticles were analyzed. Intoxications were quantitatively characterized with tens of functional, biochemical and morphometric indices. The mathematical description of combined effects was based both on common descriptive statistics and two mathematical models using analysis of variance ANOVA (a) and (b) mathematical theory of response surface construction which correlate with widely recognised paradigms of the combined toxicity theory- additivity of effects and doses additivity respectively. It was concluded that these paradigms are virtually interchangeable and should be considered as different methods of combined toxicity modelling rather than as representing fundamentally differing processes. Thus, the zero interactive response surface regression model seems preferable because it is invariant with respect to these paradigms. Within a mathematical model there exist not only three traditionally used types of combined toxicity (additivity, subadditivity and super additivity) but a lot of its variants depending on which effect is exactly considered and on its level, as well as on the dose levels and their ratio. A special attention is given to modeling opposing effects of toxics. The expedience of introducing a concept of a main (determinant) type of combined toxicity is emphasized, and criteria of its choice are proposed. For characterizing the three-factorial toxicity, a new health risk-oriented approach is suggested, the gist of which is a classification of effects depending on whether a binary combined toxicity type remains virtually the same or appears to be either more or less adverse when modeled against the background of the third toxic.

The relevance of the above results to health risk analysis and management is briefly discussed.

Keywords: combined toxicity, risk analysis, isobolograms.

Материал поступил в редакцию 13.08.2015 г.

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ПОЛИВИНИЛХЛОРИДНЫХ ПЛАСТИКАТОВ МЕТОДАМИ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

А.С. Олькова, Д.В. Будина,
А.С. Ярмоленко

ФГБОУ ВПО Вятский государственный гуманитарный университет, 610005, г. Киров, Российская Федерация

Показана чувствительность гидробионтов к ПВХ пластикатам, убывающая в следующем ряду: инфузории *Paramecium caudatum* > бактериальная тест-система «Эколюм» > *Ceriodaphnia affinis* > *Daphnia magna*. На *Daphnia magna*, проявивших наибольшую жизнеспособность, показано, что водные экстракты из ПВХ пластикатов угнетают трофическую активность рачков, их способность к размножению и повышают смертность особей. Вероятной причиной таких эффектов стало присутствие в водных экстрактах фталатов. Поиск безопасных рецептур необходимо вести в направлении оптимального соотношения ПВХ-полимера, пластификатора и термостабилизатора, а также замены составляющих композиции на безопасные вещества.

Ключевые слова: токсичность, биотестирование, поливинилхлоридные пластикаты, пластификаторы, гидробионты.

Введение. Высокомолекулярные соединения (ВМС), представленные пластмассами, резинами, синтетическими волокнами, нашли широкое применение в быту, промышленности, медицине и других сферах жизни. Большинство ВМС в процессе использования контактируют с жидкими средами. При этом известно о возможности миграции вредных веществ, входящих в состав полимерных материалов, в жидкие и иные среды [1]. Это не только гигиеническая, но и природоохранная проблема. По окончании срока эксплуатации изделий из ВМС, они массово оказываются на свалках твердых бытовых отходов, где на них действуют факторы окружающей среды, в том числе дождевые и талые снеговые воды.

Поливинилхлоридные (ПВХ) пластикаты являются одними из наиболее востребованных ВМС. Имеются сведения об уровне их использования свыше 30 млн. т в год [2]. ПВХ пластикаты используются в качестве изоляционных материалов, защитных оболочек кабелей, химически стойких прокладочных или герметизирующих материалов, отделочных материалов, а также

для изготовления водопроводных труб, детских игрушек, тары для пищевых продуктов и других значимых для населения изделий. С этих позиций поиск наилучших рецептур для изготовления качественных и безопасных изделий из ПВХ пластикатов, является актуальным научно-практическим исследованием.

Целью нашей работы стала оценка токсичности поливинилхлоридных пластикатов методами биотестирования водных вытяжек из них с использованием гидробионтов различной систематической принадлежности для установления наиболее безопасной рецептуры.

ПВХ пластикаты представляют собой термопластичный материал, полученный переработкой поливинилхлоридной композиции, рецептура которой может корректироваться в зависимости от поставленных задач.

В литературе обсуждаются вопросы токсичности ПВХ пластикатов и их составляющих. В настоящее время остро стоят вопросы выбора стабилизаторов, наиболее эффективные из которых содержат тяжелые металлы, и пластификаторов, многие из которых обладают токсичными

Олькова Анна Сергеевна (Olkova Anna Sergeevna), кандидат технических наук, доцент кафедры экологии Института естественных наук ФГБОУ ВПО «Вятский государственный гуманитарный университет» (ВятГУ), руководитель группы биотестирования Научно-исследовательской экоаналитической лаборатории ВятГУ, 610005, г. Киров, morga-abend@mail.ru

Будина Дарья Викторовна (Budina Darya Viktorovna), аспирант, ассистент кафедры химии Института естественных наук ФГБОУ ВПО «Вятский государственный гуманитарный университет», 610005, г. Киров, budina_dashenka@mail.ru

Ярмоленко Александра Сергеевна (Yarmolenko Aleksandra Sergeevna), кандидат технических наук, доцент кафедры химии Института естественных наук ФГБОУ ВПО «Вятский государственный гуманитарный университет», 610005, г. Киров, ecolab2@gmail.com

свойствами и требуют химико-технологической доработки; миграция мономера винилхлорида на современном этапе исследования проблемы не считается фактором риска [3].

Материал и методы исследования. Для исследования были взяты образцы пластифицированного поливинилхлорида, приготовленного по разным технологическим рецептурам.

Образцы готовились путем поэтапного смешивания семи компонентов (табл. 1) в лабораторных условиях на диссольтере (смешивающее устройство). При этом контролировались следующие параметры: порядок ввода компонентов, влажность рабочей зоны, температура смеси, время смешивания, условная вязкость полученной пасты.

В итоге исследуемые ПВХ пластикаты принципиально отличались ПВХ-полимерной основой и количеством пластификатора ди(2-этилгексил)ортофталата (ДОФ), от доли которого зависит эластичность изделий. Из высокопластифицированного образца (ВПЛ) изготавливают мягкие изделия, из среднепластифицированного (СПЛ) – среднежесткие, из низкопластифицированного (НПЛ) – полужесткие.

Для установления степени токсичности изготовленных образцов, их измельчали и готовили водные вытяжки. Соотношение твердой и жидкой фаз 1:10, что рекомендовано аттестованными методиками биотестирования для исследования твердых отходов [4-7]. Одновременно моделировали воздействие холодных (20°C) и горячих

вод (70°C). В качестве контроля, а также экстрагирующей жидкости использовали артезианскую воду питьевого качества.

Токсичность вытяжек из измельченных образцов определяли по смертности и изменению плодовитости низших ракообразных (*Daphnia magna* Straus и *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg), а также экспресс-методами по хемотоксической реакции простейших (*Paramecium caudatum* Ehrenberg) и билюминесценции бактериальной тест-системы «Эколюм» (*Escherichia coli* M-17) [4-7]. Для оценки безопасности образцов использовалась разработанная нами методика оценки изменения трофической активности *D. magna* [8].

Предварительно была установлена чувствительность используемых тест-объектов к стандартным токсикантам в соответствии с требованиями аттестованных методик.

Обработка результатов проведена стандартными методами математической статистики с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. В экспресс-биотестах все образцы оказывали максимальный токсический эффект. В биотесте по *P. caudatum* индексы токсичности (Т) варьировали от 0,95 до 0,98, что соответствовало III группе токсичности «высокая степень токсичности». Билюминесценция тест-системы «Эколюм» также угнеталась до значений Т 95, что по данной методике интерпретируется как «образец сильно токсичен». Следует отметить, что данные методики в качестве тест-функций предполага-

Таблица 1

Состав пластикаторов

Наименование компонента	Класс опасности	Доля компонента в образце, %		
		НПЛ	СПЛ	ВПЛ
ПВХ-полимер эмульсионный пастообразующий, К=70*	3	-	62	55
ПВХ-полимер микросуспензионный пастообразующий, К=70*	3	57	-	-
ПВХ-полимер суспензионный экстендер	3	10	-	-
Пластификатор ди(2-этилгексил)ортофталат (ДОФ)	2	27	34	39
Регулятор вязкости (смесь непредельных углеводов)	3	2,5	2,5	1,6
Эпоксидированное растительное масло	-	1,5	1,2	2,8
Комбинированная смазка (смесь сложноэфирных соединений)	-	1	0,5	0,7
Mg-Zn-термостабилизатор	-	0,8	0,5	0,6
Неорганические железистоокисные пигменты, двуокись титана, хромофталы	2	0,2	0,3	0,3

Примечание: * - К - константа Финкентчера, характеризующая молекулярную массу полимера; НПЛ - низкопластифицированный образец, СПЛ - среднепластифицированный образец, ВПЛ - высокопластифицированный образец.

ют оценку не летальных эффектов, а функциональных показателей – хемотаксиса и биолюминесценции (экспозиция 30 мин.).

Особь *C. affinis* погибали в исследуемых средах в первые сутки опыта. Рачки *D. magna* оказались более устойчивыми и позволили дифференцировать образцы по степени безопасности. Результаты представлены в таблице 2.

Самым безопасным следует признать высокопластифицированный образец. Водная вытяжка из него приготовленная как «холодным», так и «горячим» способом не потребовала установления безвредной кратности разбавления, так как в кратковременном эксперименте (96 ч) не оказывала острого токсического действия на дафний. Однако, в долговременном эксперименте образец оказывал хроническое токсическое действие прежде всего по критерию гибели взрослых особей. При этом контакт ПВХ пластиката с холодной водой не угнетал плодовитости ракообразных, а с горячей – достоверно снижал показатель почти в 3 раза.

При тестировании низко- и среднепластифицированных образцов установлена их острая токсичность. Только при разбавлении исходных вытяжек (100%) в 2–4 раза дафнии выживали в течение четырех суток. Сохраняется тенденция увеличения токсичности при воздействии на ПВХ пластикат горячей воды. Для низкопластифицированного образца установлена безвредная кратность разбавления (БКР) вытяжки при 20°C равная 4, а при 70°C – 2, но при анали-

зе способности особей к размножению в данных вариантах наблюдается большее снижение плодовитости в вытяжке, приготовленной при нагревании.

Анализируя динамику смертности дафний на протяжении 24 дней, можно сделать вывод, что низкопластифицированный образец наиболее опасен, так как все рачки погибали в «холодной» вытяжке при её разбавлении в 4 раза, при разбавлении в 10 раз смертность также превышала допустимый критерий (рис. 1). В «горячей» вытяжке разбавление пробы в 10 раз позволило выжить большинству дафний на фоне снижения их плодовитости в 4,7 раза.

Контакт высокомолекулярных соединений с горячей водой в быту распространен. В то же время многие полимеры не рекомендуется использовать для горячих продуктов и жидкостей, что указывается производителем. В нашем эксперименте, направленном, в том числе, на выбор наиболее оптимальных рецептур пластикатов, показано, что высокая температура может являться фактором увеличения токсичности ВМС. Вероятно, это связано с возрастанием скорости физико-химических процессов (диссоциация, растворение) при повышении температуры и, как следствие, миграцией некоторых компонентов в раствор. В работе [9] показано, что горячая вода усиливает миграцию из ПВХ-трубопроводов стабилизаторов на основе свинца.

Методом хроматомасс-спектрометрии определялись вещества, присутствующие в пробе,

Таблица 2

Характеристики водных вытяжек из ПВХ пластикатов, установленные в биотесте на *D. magna*

Вариант		Наличие острой токсичности (гибель за 96 часов)		Плодовитость за 24 дня		Гибель взрослых особей на 24 день, %		БКР**	
		20 °C	70 °C	20 °C	70 °C	20 °C	70 °C	20 °C	70 °C
Контроль		-	-	13,5±1,5		0		-	
НПЛ	100	+	+	0	0	-	-	4	2
	50	+	-	0	6,0±5,2	-	100	-	-
	25	-	-	3,5±1,1*	2,6±0,8*	100	36,7	-	-
	10	-	-	9,9±4,0	2,9±1,3*	23,3	10	-	-
СПЛ	100	+	+	0	0	-	-	2	4
	50	-	+	9,0±0,4*	0	20	-	-	-
	25	-	-	7,4±2,5*	5,6±2,2*	3,3	40	-	-
	10	-	-	6,8±1,1*	3,9±2,3*	0	16,7	-	-
ВПЛ	100	-	-	16,6±3,0	4,8±1,1*	40	90	-	-

Примечание: * - отличия достоверны по сравнению с контролем; **БКР - безвредная кратность разбавления.

которые могли вызвать токсичность. Анализ проводился на газовом хроматографе-масс-спектрометре DSQ. Спектры расшифровывались по библиотеке масс-спектрометрических спектров NIST (международный институт стандартов и эталонов) [10].

Все пики хроматограмм были проанализованы. Большинство из них характеризовали фазу внутри колонки [11]. При анализе вытяжек, приготовленных при 70°C, были пики, отличающиеся от фазы. Пример такого пика для среднепластифицированного образца представлен на рисунке 2, время выхода – 15,3 минут.

Данный пик относится к классу фталатов – диизобутилфталат с совпадением по библиотеке NIST 95,6% (синонимы: Phthalic acid, diisobutyl ester, Diisobutylester kyseliny ftalove). В составе композиции, составленной для приготовления ПВХ-пластизолей, источником данного вещества, по всей видимости, послужил ди(2-этилгексил)ортофталат, иначе – пластификатор ДОФ. Он относится ко 2-му классу опасности, поэтому в небольших концентрациях угнетает живые организмы. В ряде исследований доказана репродуктивная токсичность таких пластификаторов [12-14].

Для других образцов были получены аналогичные результаты. При этом в вытяжках, приготовленных при температуре 20°C, фталаты не обнаруживались.

Таким образом, не все компоненты ПВХ пластизолей после перевода их в ПВХ пластикаты посредством проведения реакций полимеризации (желатинизации) подвержены миграции в водную среду. Имеет место экстракция пластификатора ДОФ, так как данный компонент в процессе полимеризации не подвергается химическо-

му связыванию с молекулами полимера, а удерживается внутри образовавшегося пластиката вандерваальсовыми электростатическими силами. В литературе имеются данные о том, что пластификаторы могут мигрировать в процессе эксплуатации изделий из ПВХ на их поверхность, увлекая за собой и другие ингредиенты компози-

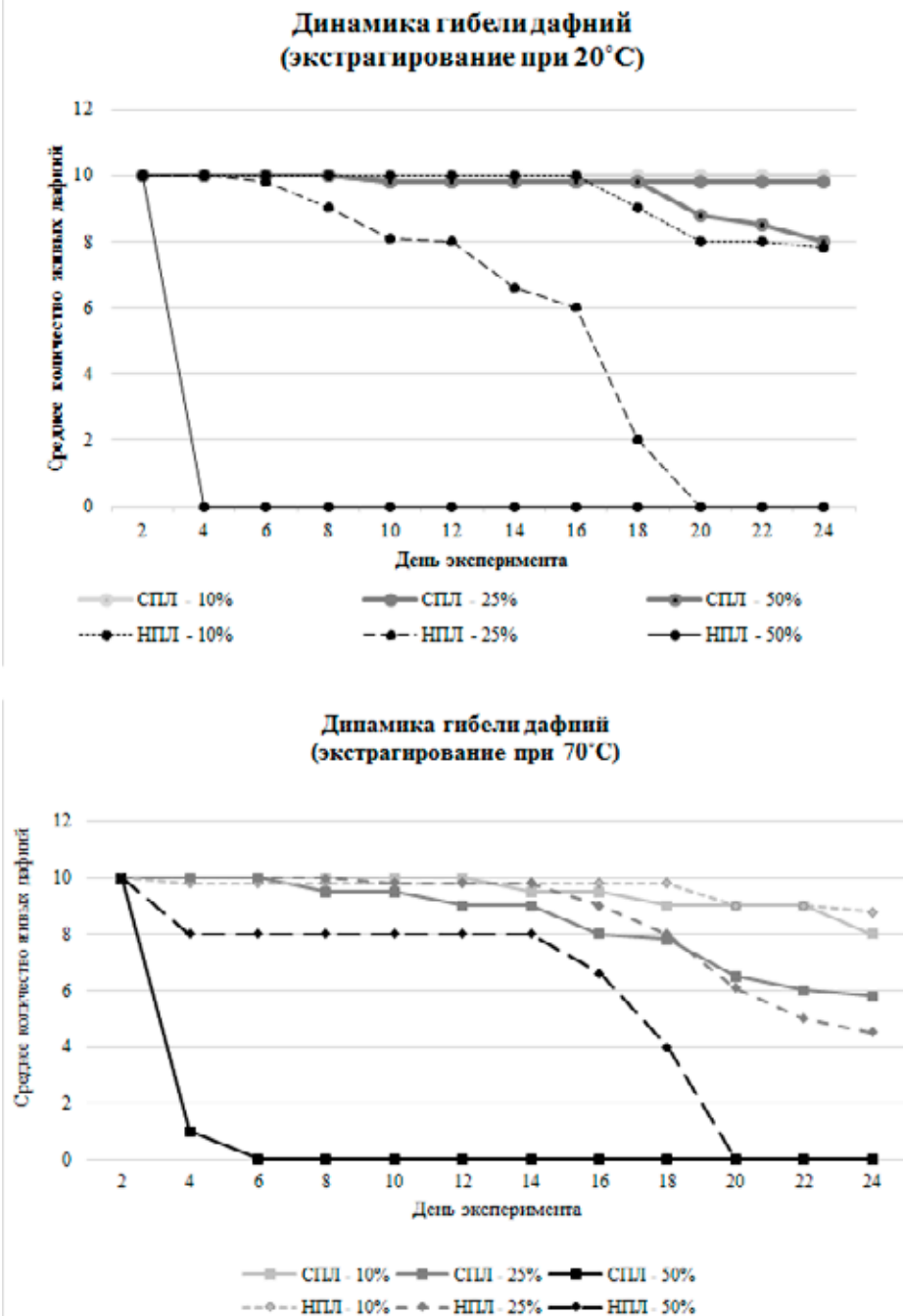


Рис. 1. Динамика гибели *D. magna* в водных экстрактах пластификаторов. По оси абсцисс: день эксперимента. По оси ординат: среднее количество живых дафний в тестируемом варианте. Примечание: «СПЛ-10%» и т.п. означает вид образца и степень разбавления водной вытяжки, %.

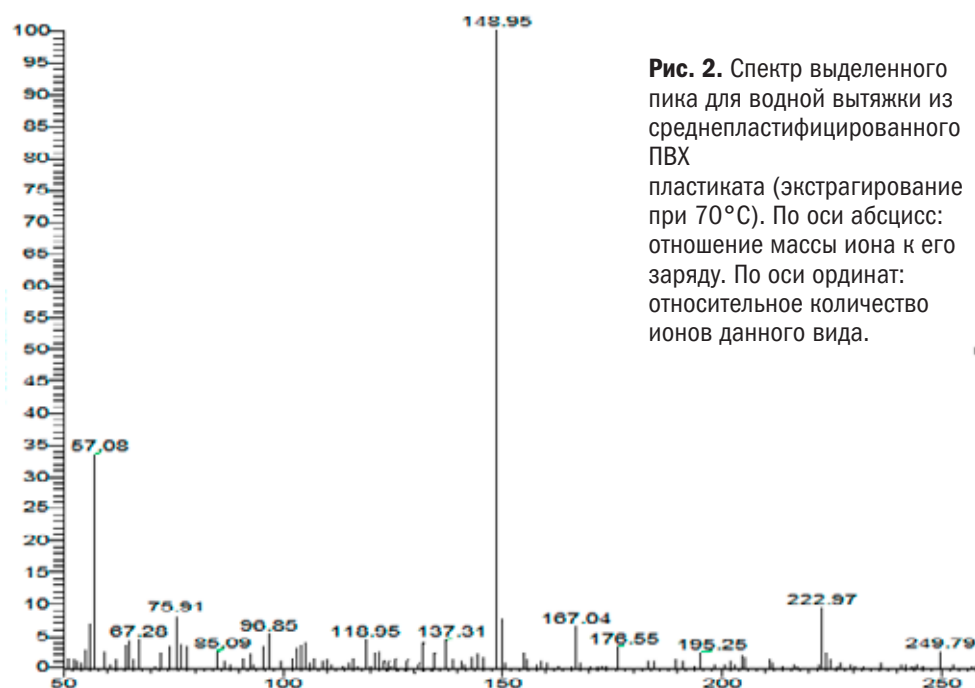


Рис. 2. Спектр выделенного пика для водной вытяжки из среднепластифицированного ПВХ пластиката (экстрагирование при 70°C). По оси абсцисс: отношение массы иона к его заряду. По оси ординат: относительное количество ионов данного вида.

ции, например, термостабилизаторы [15, 16]. Однако, это может быть не единственной причиной токсичности экстрактов.

Опытным путем установлено, что рецептуры с большим содержанием пластификатора являются менее токсичными, несмотря на потенциальную опасность ДОФ. Вероятно, это объясняется тем, что высокопластифицированные пластикаты являются более термостабильными по сравнению с их низкопластифицированными образцами. Образовавшиеся в результате термодеструкции продукты распада (соединения хлора, например, хлороводород) могут на время задерживаться в матрице низкопластифицированных пластикатов, затем мигрировать в водную среду, оказывая токсическое действие.

Оценка безопасности ПВХ пластикатов также проведена по степени угнетения трофической активности низших ракообразных. Для точного определения объема выедания водорослей *Scenedesmus quadricauda* проводили из-

мерение оптической плотности тестируемых растворов непосредственно после кормления и на следующий день перед очередным кормлением. Использовался прибор «ИПС-03» (измеритель плотности суспензии, разработчик Григорьев Ю. С.), специально предназначенный для регистрации подобных параметров. Затем рассчитывали угнетение трофической активности по сравнению с контрольными вариантами (табл. 3). Показатель представлен для проб, где гибели рачков в течение

данного эксперимента не было.

В тестируемых вариантах максимальное угнетение трофической активности закономерно оказывали пробы с максимальным содержанием исходной вытяжки (50%). В целом эксперимент подтвердил выявленные тенденции и перспективность показателя при доработке критериев токсичности.

Заключение. Проведенные исследования показали, что из поливинилхлоридных пластикатов возможна миграция вредных веществ в окружающую среду, прежде всего пластификаторов. При этом наиболее безопасным оказался высокопластифицированный образец.

Чувствительность используемых тест-организмов к водным вытяжкам из ПВХ пластикатов представлена следующим рядом: инфузории *Paramecium caudatum* > бактериальная тест-система «Эколюм» > *Ceriodaphnia affinis* > *Daphnia magna*. В биотестах на *D. magna*, проявивших наибольшую устойчивость, показано, что во-

Таблица 3

Данные по угнетению трофической активности *D. magna* в вытяжках (20°C) тестируемых образцов по сравнению с контролем, %

Вариант (доля исходной вытяжки)	НПЛ	СПЛ	ВПЛ
10%	15	44,4	20
25%	38,6	33,3	45
50%	80	56	95,6

Примечание: отличия достоверны по сравнению с контролем.

дные экстракты из ПВХ пластикаторов угнетают трофическую активность рачков, их способность к размножению и повышают смертность особей в течение хронического эксперимента.

Повышение температуры создает условия для экстракции из пластикаторов токсичных

веществ. Поиск безопасных рецептур необходимо вести в направлении оптимального соотношения ПВХ-полимера, пластификатора и термостабилизатора, а также замены составляющих композиции на безопасные вещества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шефтель В. О. Вредные вещества в пластмассах: Справочник. М.: Химия; 1991.
2. Гришин А. Н., Гуткович А. Д., Шебырев В. В. Современные тенденции развития производства ПВХ. Пластик. 2004; 1: 29-33.
3. Басалаева Л. В., Шафран Л. М., Пресняк И. С., Копя М. Р. Поливинилхлорид на транспорте: назначение, физико-химические и гигиенические свойства, горение. (Обзор литературы и материалов собственных исследований). Актуальные проблемы транспортной медицины. 2008; 2 (12): 87-97.
4. ФР.1.39.2007.032 Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. М.: Акварос; 2007.
5. ФР.1.39.2007.032 Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. М.: Акварос; 2007.
6. ФР.1.31.2005.01882 (ред. 2010). Методика определения токсичности проб почв, донных отложений и осадков сточных вод экспресс-методом с применением прибора «Биотестер». С.-Пб.: ООО «СПЕКТР-М»; 2010.
7. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04; 16.1:2:3:3.8-Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм»; 2010.
8. Олькова А. С. Поиск информативных тест-функций *Daphnia magna* при биотестировании компонентов окружающей среды. В кн. Биосистема: от теории к практике. Сборник тезисов. Пушчино. 2013; 92-94.
9. Катаева С. Е. Кинетика миграции стабилизаторов на основе свинца из поливинилхлоридных труб. Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение. 2013; 3 (63): 24-28.
10. Mass Spectral Library (NIST 2005). National Institute of Standards and Technology. Gaithersburg, USA; 2005.
11. Mc Lafferty, F.W. Interpretation of mass spectra. Mill Valley: University Science; 1993: 371.
12. Kohn MC, Parham F, Masten SA, et al. Letter: human exposure estimates for phthalates. Environmental Health Perspectives. 2000; 108 (10): 440-441.
13. Latini G., De Felice C., Verrotti A. Plasticizers, infant nutrition and reproductive health review. Reproductive Toxicology. 2004; 19 (1): 27-33.
14. Salazar V., Castillo C., Ariznavarreta C., Campón R., Tresguerres J.A.F. Effect of oral intake of dibutyl phthalate on reproductive parameters of Long Evans rats and prepubertal development of their offspring. Toxicology. 2004; 205 (2): 131-137.
15. Шефтель В. О., Катаева С. Е. Миграция вредных химических веществ из полимерных материалов. М.: Химия; 1978.
16. Group E. Environmental fate and aquatic toxicology studies on phthalate esters. Environmental Health Perspectives. 1996; 65: 337.

REFERENCES:

1. Sheftel' V.O. Hazardous substances in plastics. M.: Khimiya; 1991 (in Russian).
2. Grishin A.N., Gutkovich A.D., Shebyrev V.V. Current trends in the production of PVC. Plastics. 2004; 1: 29-33 (in Russian).
3. Basalava L.V., Shafran L.M., Presnyak I.S., Kopya M.R. Polyvinyl chloride on transport: purpose, physico-chemical and hygienic properties, burning. (Review of the literature and their own research materials). Aktual'nye problemy transportnoy meditsiny. 2008; 2 (12): 87-97 (in Russian).
4. FR.1.39.2007.032 Method of determining the toxicity of water and aqueous extracts from soils, sewage sludge, waste by mortality and fertility change *Ceriodaphnia affinis*. Moscow: Akvaros; 2007 (in Russian).
5. FR.1.39.2007.032 Method of determining the toxicity of water and aqueous extracts from soils, sewage sludge and waste by changes in the intensity of bacterial bioluminescence test system "Ekolyum"; 2010 (in Russian).
6. FR.1.31.2005.01882 (ed. 2010). Method of determining the toxicity of soils, sediment and sewage sludge by rapid method using the device "Biotester". Saint Petersburg: OOO «SPEKTR-M»; 2010 (in Russian).
7. PND F T 14.1:2:3:4.11-04; 16.1:2:3:3.8-Method of determining the toxicity of water and aqueous extracts from soils, sewage sludge and waste by changes in the intensity of bacterial bioluminescence test system "Ekolyum"; 2010 (in Russian).
8. Olkova A.S. Search informative test-functions of *Daphnia magna* in bioassay with environmental components. In: Biosistema: ot teorii k praktike. Sbornik tezisov. Pushchino. 2013; 92-94 (in Russian).
9. Kataeva S.E. The kinetics of the migration of stabilizers containing lead, out of polyvinylchloride pipes. Vodoochistka. Vodopodgotovka. Vodosnabzhenie. 2013; 3 (63): 24-28. (in Russian)
10. Mass Spectral Library (NIST 2005). National Institute of Standards and Technology. Gaithersburg, USA; 2005.
11. Mc Lafferty, F.W. Interpretation of mass spectra. Mill Valley: University Science; 1993: 371.
12. Kohn MC, Parham F., Masten S.A. Letter: human exposure estimates for phthalates. Environmental Health Perspectives. 2000; 108 (10): 440-441.
13. Latini G., De Felice C., Verrotti A. Plasticizers, infant nutrition and reproductive health review. Reproductive Toxicology. 2004; 19 (1): 27-33.
14. Salazar V., Castillo C., Ariznavarreta C., Campón R., Tresguerres J.A.F. Effect of oral intake of dibutyl phthalate on reproductive parameters of Long Evans rats and prepubertal development of their offspring. Toxicology. 2004; 205 (2): 131-137.
15. Sheftel' V.O., Kataeva S.E. The migration of hazardous chemicals from polymeric materials. M.: Khimiya; 1978 (in Russian).
16. Group E. Environmental fate and aquatic toxicology studies on phthalate esters. Environmental Health Perspectives. 1996; 65: 337.

A.S. Olkova, D.V. Budina, A.S. Yarmolenko

TOXICITY ASSEMENT OF POLYVINYLCHLORIDE PLASTIKATES USING BIO TESTING METHODS

Vyatka State University of Humanities, 610005 Kirov, Russian Federation

Sensitivity of hydrobionts to PVC plasticates decreasing in the following series: infusoria *Paramecium caudatum* > bacterial test-system «Ecolum» > *Ceriodaphnia affinis* > *Daphnia magna* is demonstrated. It was shown on the example of *Daphnia magna* manifesting the highest viability that water extracts of PVC plasticates inhibit the trophic activity of crustaceans, their reproductive power and increase species mortality. It is probable that those effects are caused by the presence of phthalates in water extractions. The search for safe formulations should be directed towards finding an optimal correlation between PVC polymer, plasticizer and heat stabilizer and replacement of composition ingredients with safe substances as well.

Keywords: toxicity, bio testing, polyvinyl chloride plasticates, plasticizers, hydrobionts.

Материал поступил в редакцию 09.02.2015 г.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 574.583:595.3

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ИЗОФОРМ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА ПЛАНКТОННЫХ РАКООБРАЗНЫХ *CERIODAPHNIA AFFINIS LILLEBORG*

В.А. Гремячих,
И.И. Томилина

ИБВВ РАН, Федеральное
государственное бюджетное
учреждение Институт биологии
внутренних вод им. И.Д.Папанина
РАН, 152742 пос. Борок,
Ярославская обл., Некоузский р-н,
Российская Федерация

Изучено влияние различных концентраций водных суспензий наночастиц TiO_2 (в изоформах анатаза и рутила) на выживаемость и плодовитость ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis*. В 400 и 100 мг/л анатаза за 7 суток отмечено статистически значимое снижение выживаемости рачков. Средняя продолжительность жизни животных достоверно отличалась от контрольных значений в суспензиях рутила 2 и 0,2 мг/л, анатаза – во всех исследованных концентрациях. Значение показателя снижалось с увеличением концентрации вещества ($r = -0,21$; $p < 0,02$). Изоформы диоксида титана оказывали негативное влияние на репродуктивную функцию цериодафний. Зарегистрировано достоверное снижение суммарной плодовитости рачков за жизненный цикл для анатаза в концентрациях 0,2 и 0,02 мг/л и рутила – 0,2 мг/л. Анатаз в равных с рутилом концентрациях оказывал на цериодафний более выраженное токсическое действие, что, связано с меньшими размерами его частиц.

Ключевые слова: диоксид титана, наночастицы, токсичность, цериодафнии.

Введение. Среди известных на сегодняшний день наноматериалов наиболее широко производятся и используются наночастицы (НЧ) диоксида титана. Только в США четыре крупные компании вырабатывают в год более 100 000 тонн НЧ TiO_2 , к 2025 году их производство прогнозируется довести до 2,5 млн. тонн [1]. НЧ TiO_2 применяются в различных отраслях промышленности и в медицине. 57 % используется в строительстве в составе лакокрасочной продукции, цемента, облицовочных плиток, 26 % — в производстве пластмасс, 13 % — бумаги, 4 % — в электронике, косметике (солнцезащитный крем, зубная паста и др.), пищевой промышленности

(пищевые добавки), а также в производстве керамики, типографской краски, зеркал и т.д. [2].

Диоксид титана существует в виде нескольких модификаций. В природе чаще встречаются кристаллы диоксида титана с тетрагональной сингонией (анатаз, рутил), реже - с ромбической сингонией (брукит). НЧ TiO_2 производятся в изоформах нанорутила и наноанатаза в виде кристаллов, наносфер или лент [3].

Очевидная неполнота и противоречивость информации об особенностях поведения наноматериалов в сочетании с реальными перспективами резкого увеличения их содержания в среде обитания человека и других биологических объек-

Гремячих Вера Алексеевна (Gremyachikh Vera Alekseevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и токсикологии водных животных, Федеральное бюджетное учреждение Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН, 152742, пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, Российская Федерация, gva@ibiw.yaroslavl.ru

Томилина Ирина Ивановна (Tomilina Irina Ivanovna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и токсикологии водных животных, Федеральное бюджетное учреждение Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН, 152742, пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, Российская Федерация, tomil@ibiw.yaroslavl.ru

тов выдвигает на первый план проблемы биобезопасности нанотехнологий и наноматериалов [4]. Роль живых организмов в их распространении в окружающей среде практически не исследована [5]. Гидробионты (особенно беспозвоночные) могут влиять на перемещение наноматериалов в пределах и за пределами водоемов. Одним из условий получения адекватной оценки безопасности техногенных наночастиц является использование традиционных тест-организмов, включенных в стандартные программы биотестирования многих стран, в том числе и России.

Цель работы – оценить изменения биологических параметров (выживаемости, плодовитости и интенсивности размножения) *Ceriodaphnia affinis* L. при действии разных изоформ наночастиц диоксида титана.

Материалы и методы исследования. Суспензии TiO_2 готовили методом диспергирования навески порошка в отстоянной артезианской воде на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2Т в режиме 0,5 А, 44 кГц. Концентрации исследуемых частиц от 400 до 0,002 мг/л получали путем последовательного разведения маточной суспензии (400 мг/л) непосредственно перед опытом на отстоянной артезианской воде. Наночастицы диоксида титана были представлены в виде двух изоформ: анатаза, размером до 50 нм и форме, близкой к сферической; и рутила, имеющего форму палочек или стержней диаметром около 10 и длиной до 100 нм.

В качестве тест-объекта использовали ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, 1862 (Cladocera, Crustacea). Токсичность соединений титана исследовали по стандартной методике [6]. В первые сутки от рождения рачков помещали по одному в стаканчики с 15 мл тестируемого раствора или суспензии и наблюдали либо в течение 7 суток (0,002 – 400 мг/л), либо на протяжении всего жизненного цикла (0,002 – 2 мг/л). Ежедневно регистрировали количество живых организмов, число пометов и молоди у каждой самки. Исследовали выживаемость, продолжительность жизненного цикла и индивидуальную плодовитость животных.

Результаты обрабатывали статистически, используя метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и процедуру LSD-теста при уровне значимости $p=0,05$ [7]. Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ STATGRAPHICS Plus 2.1.

Результаты и обсуждение. Во всём исследованном диапазоне концентраций суспензий наночастиц диоксида титана, за исключением анатаза в концентрации 400 мг/л, за 48 часов экспозиции зарегистрирована 90-100 % выживаемость цериодафний (табл. 1). Достоверное снижение выживаемости рачков за 7 суток экспозиции отмече-

но в суспензии анатаза в концентрациях 400 и 100 мг/л. Плодовитость рачков за указанный период, как по среднему количеству пометов на 1 самку, так и по количеству молоди на 1 самку во всех концентрациях была ниже контрольных значений. Анатаз в диапазоне концентраций 400 – 100 мг/л подавлял плодовитость цериодафний на 80-90%. Снижение плодовитости рачков за указанный период экспозиции достоверно зависело от концентрации вещества (для рутила $r = -0,48$; $p = 0,00$; для анатаза $r = -0,51$; $p = 0,00$).

Влияние низких концентраций наночастиц диоксида титана (2-0,002 мг/л) на цериодафний исследовали в опытах, охватывающих весь их жизненный цикл. Выживаемость рачков в первую и вторую недели эксперимента во всех опытных вариантах не отличалась от контрольных значений (табл. 2) К концу 3-й и 4-й недели отмечена тенденция к снижению выживаемости цериодафний, для анатаза в концентрации 0,2 мг/л - достоверная. Средняя продолжительность жизни животных достоверно отличалась от контрольных значений в суспензиях всех исследованных веществ и концентраций, за исключением рутила в концентрации 0,002 мг/л. Значение показателя в суспензии рутила не зависело от концентрации НЧ ($r = -0,1$; $p = 0,34$), а в растворах анатаза – статистически значимо уменьшалось с её увеличением ($r = -0,21$; $p = 0,02$) (табл. 2).

Во всех группах исследованных веществ отмечена тенденция к снижению средней суммарной плодовитости животных и интенсивности их размножения, достоверная – для анатаза в концентрациях 0,2, 0,002 и рутила – 0,2 мг/л (рис.). При экспонировании цериодафний в суспензиях анатаза установлены статистически значимые отрицательные концентрационные зависимости для показателей суммарной плодовитости ($r = -0,29$ при $p=0,004$) и интенсивности размножения животных ($r = -0,23$ при $p=0,02$). НЧ вещества в наименьшей из исследованных концентраций (0,002 мг/л) максимально (на 50%) подавляли плодовитость рачков, особенно во второй половине эксперимента (рис.). В суспензии анатаза с концентрацией 0,2 мг/л эта тенденция сохранялась. В суспензиях рутила кривые, характеризующие увеличение количества отрождённой молоди по неделям, фактически от контрольной не отличались.

Токсическое действие наночастиц связано с их способностью проникать в неизменном виде через клеточные барьеры, длительное время циркулировать и накапливаться в органах и тканях, вызывать в них патоморфологические нарушения и медленно выводиться из организма [8]. В водные организмы помимо желудочно-кишечного тракта НЧ могут поступать через наружные покровы и жабры, попадать в их икру и личинки,

Таблица 1

Влияние изоформ диоксида титана на выживаемость и репродуктивные показатели цериодафний за 7 суток эксперимента

Вещество	Концентрация, мг/л	Выживаемость, %		Среднее количество молоди за 7 суток, экз, % от контроля
		48 ч	7 сут	
анатаз	400	75±15	60±10*	8,7 ± 2,6*
	200	90±10	90±10	17,4 ± 3,1*
	100	90±10	60±10*	11,6 ± 2,9*
	50	100±0	90±10	22,7 ± 2,5*
	20	100±0	100±0	34,6 ± 4,6*
	2	100±0	95±5	23,0 ± 3,8*
	0,2	100±0	85±5	27,4 ± 3,6*
	0,02	100±0	85±5	39,8 ± 7,1*
	0,002	100±0	90±10	61,0 ± 8,3
рутил	400	90±10	80±10	29,7 ± 4,7*
	200	90±10	90±10	41,3 ± 5,9*
	100	100±0	85±5	47,4 ± 6,1*
	50	100±0	90±10	45,6 ± 3,4*
	20	100±0	100±0	57,0 ± 4,3*
	2	100±0	95±5	46,2 ± 6,2*
	0,2	100±0	95±5	37,6 ± 3,1*
	0,02	100±0	100±0	72,6 ± 7,0
	0,002	100±0	100±0	64,6 ± 7,9
контроль		100±0	95±5	100 ± 7,0

Примечание: В табл. 1 и 2 даны средние значения и их ошибки ($x \pm SE$)

* Достоверные различия при уровне значимости $p=0,05$

Таблица 2

Влияние изоформ диоксида титана на выживаемость и продолжительность жизненного цикла рачков при хроническом воздействии

Вещество	Концентрация, мг/л	Выживаемость к концу недели, %				Средняя продолжительность жизненного цикла, сут
		1-ая неделя	2-ая	3-я	4-я	
анатаз	2	95±5	80 ± 5	75±10	55±10	27,7 ± 2,7*
	0,2	95±5	70 ± 10	50±10*	50±10*	25,4 ± 3,0*
	0,02	85±5	85±5	80±10	75± 10	30,7 ± 3,3*
	0,002	90±10	85 ± 5	60±15	55±10	27,8 ± 2,4*
рутил	2	95±5	85 ± 10	70 ± 15	50±15	24,2 ± 2,3*
	0,2	95±5	85 ± 10	65±10	45±10	25,7 ± 2,3*
	0,02	100±0	70 ± 0	65±5	60±10	30,7 ± 3,3*
	0,002	100±0	100±0	95±5	90±10	31,3 ± 2,5
контроль		95±5	95±5	95±5	85±10	35,3 ± 2,5

Примечание: * Достоверные различия при уровне значимости $p=0,05$

а также становятся более доступными для многочисленных представителей более низких трофических сетей – простейших одноклеточных организмов [9].

Несмотря на то, что многие исследованные наноматериалы не обладают острой токсичностью, их хроническое действие до настоящего времени изучено недостаточно. В нашем исследовании отмечены достоверные отличия средней продолжительности жизни цериодафний от контрольных значений в суспензиях рутила с концентрацией 2 и 0,2 и анатаза – во всех исследованных концентрациях. В растворах анатаза значение показателя статистически значимо снижалось с увеличением концентрации вещества. Наночастицы в большей степени влияют на воспроизводство водных беспозвоночных, угнетая или стимулируя их плодовитость, замедляют рост, вызывают неспецифические поведенческие и морфофункциональные нарушения, снижая тем самым жизнеспособность организмов [10,11]. Репродуктивные показатели цериодафний оказались чувствитель-

нее показателя выживаемости: суммарная плодовитость рачков за жизненный цикл снижалась при экспонировании в концентрациях анатаза 0.2 и 0,02 мг/л, рутила – 0,2 мг/л. Причем, анатаз в самой меньшей концентрации подавлял плодовитость в большей степени. Для этой же концентрации интенсивность размножения достоверно была ниже контрольных значений. Таким образом, анатаз в равных концентрациях с рутилом оказывал более выраженное токсическое действие на выживаемость и плодовитость рачков, что связано с меньшими размерами его частиц.

Заключение. Острая токсичность суспензий наночастиц диоксида титана различной полиморфной модификации для цериодафний в исследованном диапазоне концентраций не зарегистрирована. Достоверное снижение выживаемости рачков за 7 суток отмечено в концентрациях 400 и 100 мг/л анатаза. Средняя продолжительность их жизни достоверно отличалась от контрольных значений в суспензиях рутила с концентрацией 2 и 0,2, анатаза

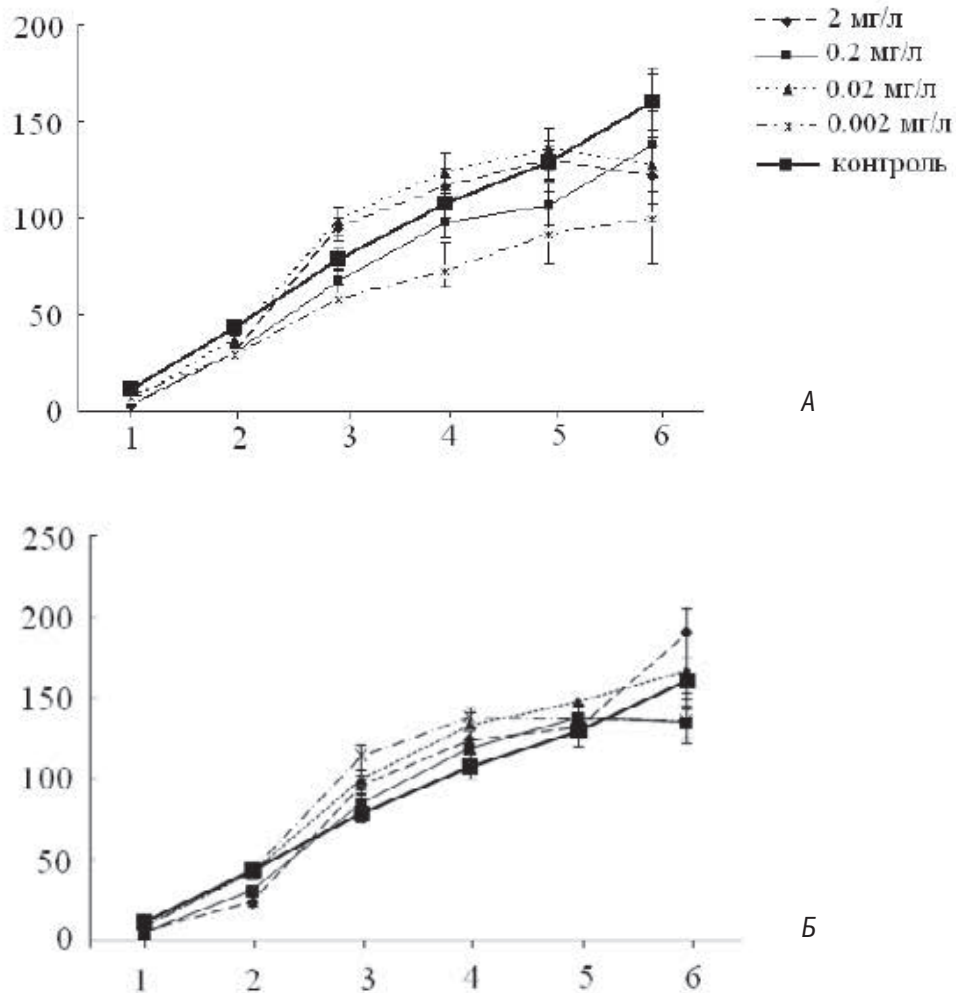


Рис. Накопленная плодовитость *Ceriodaphnia affinis* при экспонировании в суспензии наночасти диоксида титана (а - анатаз, б - рутил), по оси абсцисс – недели эксперимента, по оси ординат – количество молоди, экз

– во всех исследованных концентрациях. Значение показателя статистически значимо снижалось с увеличением концентрации вещества ($r = -0,21$; $p < 0,02$). Изоформы диоксида титана оказывали негативное влияние на репродуктивную функцию цериодафний. Зарегистрировано достоверное снижение суммарной плодовитости рачков за жизненный цикл для анатаза в концентрациях 0,2 и 0,02 мг/л и рутила – 0,2 мг/л. В

суспензиях анатаза установлена статистически значимая отрицательная концентрационная зависимость для показателей суммарной плодовитости ($r = -0,29$ при $p=0,004$) и интенсивности размножения рачков ($r = -0,23$ при $p=0,02$). Анатаз в равных с рутилом концентрациях оказывал на цериодафний более выраженное токсическое действие, что, вероятно, связано с меньшими размерами его частиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Robichaud K.O., Uyar A.E., Darby M.R. Estimates of upper bounds and trends in nano-TiO₂ production as a basis for exposure assessment // *Environ. Sci. Technol.* 2009; 43 (12): 4227-4233.
 2. Гмошинский И.В., Смирнова В.В., Хотимченко С.А. Современное состояние проблемы оценки безопасности наноматериалов // *Российские нанотехнологии.* 2010; 5 (9-10): 5-20.
 3. Hamilton R.F., Wu N., Porter D. Particle length-dependent titanium dioxide nanomaterials toxicity and bioactivity // *Particle and Fibre Toxicology.* 2009; 6 (35): 1-11.

4. Моргалёв Ю.Н., Хоч Н.С., Моргалёва Т.Г., Гулик Е.С., Борило Г.А. и др. Биотестирование наноматериалов: о возможности транслокации наночастиц в пищевые сети // *Российские нанотехнологии.* 2010; 5 (11-12): 98-102.
 5. Крысанов Е.Ю., Павлов Д.С., Демидова Т.Б., Дгебуадзе Ю.Ю. Наночастицы в живой природе: что нам об этом известно? // *Российские нанотехнологии.* 2009; 4 (7- 8): 26-27.
 6. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости

цериодафний. Федеральный реестр (ФР). ФР.1.39.2007.032М., «АКВАРОС». 2007; 56 с.
 7. Sokal R. R., Rohlf F. J. *Biometry. The principals and practice of statistics in biological research.* NY.W.H. Freeman and Co. 1995; 887 p.
 8. Baun A., Hartmann N.B., Grieger K., Kusk K.O. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing // *Ecotoxicology.* 2008; 17: 387-395.
 9. Крысанов Е.Ю., Павлов Д.С., Демидова Т.Б., Дгебуадзе Ю.Ю. Наноча-

стицы в окружающей среде и их влияние на гидробионтов // *Известия РАН. Серия Биологическая.* 2010; 4: 1-8.
 10. Hall S., Bradley T., Moore J. Acute and chronic toxicity of nano-scale TiO₂ particles to freshwater fish, cladocerans, and green algae, and effects of organic and inorganic substrate on TiO₂ toxicity // *Nanotoxicology.* 2009; 3 (2): 91-97.
 11. Zhu X., Zhu L., Chen Y., Tian S. Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna* // *Journal of Nanoparticle Research.* 2008; 11: 67 - 75.

REFERENCES:

1. Robichaud K.O., Uyar A.E., Darby M.R. Estimates of upper bounds and trends in nano-TiO₂ production as a basis for exposure assessment // *Environ. Sci. Technol.* 2009; 43 (12): 4227-4233.
 2. Gmoshinskij I.V., Smirnova V.V., Khotimchenko S.A. State of the problem of safety evaluation of nanomaterials // *Rossiiskie nanotekhnologii.* 2010; 5 (9-10): 5-20 (in Russian).
 3. Hamilton R.F., Wu N., Porter D. Particle length-dependent titanium dioxide nanomaterials toxicity and bioactivity // *Particle and Fibre Toxicology.* 2009; 6 (35): 1-11.

4. Morgalyov Yu.N., Khoch N.S., Morgalyova T.G., Gulik E.S., Borilo G.A. et al. Biotesting of nanomaterials: opportunities translocation of nanoparticles in food network // *Rossiiskie nanotekhnologii.* 2010; 5 (11-12): 98-102 (in Russian).
 5. Krysanov E.Yu., Pavlov D.S., Demidova T.B., Dgebuadze Yu.Yu. Nanoparticles in nature: what we know about this? // *Rossiiskie nanotekhnologii.* 2009; 4 (7-8): 26-27 (in Russian).
 6. Test method for measuring the toxicity of water and aqueous extracts of soil, sewage sludge, waste on mortality and

fertility change ceriodaphnia. Federal'nyj reestr (FR). FR.1.39.2007.032M., «AKVAROS». 2007; 56 s (in Russian).
 7. Sokal R. R., Rohlf F. J. *Biometry. The principals and practice of statistics in biological research.* NY.W.H. Freeman and Co. 1995; 887 p.
 8. Baun A., Hartmann N.B., Grieger K., Kusk K.O. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing // *Ecotoxicology.* 2008; 17: 387-395.
 9. Krysanov E.Yu., Pavlov D.S., Demidova T.B., Dgebuadze Yu.Yu. Nanoparticles

in the environment and their impact on hydrobionts // *Izvestiya RAN. Seriya Biologicheskaya.* 2010; 4: 1-8 (in Russian).
 10. Hall S., Bradley T., Moore J. Acute and chronic toxicity of nano-scale TiO₂ particles to freshwater fish, cladocerans, and green algae, and effects of organic and inorganic substrate on TiO₂ toxicity // *Nanotoxicology.* 2009; 3 (2): 91-97.
 11. Zhu X., Zhu L., Chen Y., Tian S. Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna* // *Journal of Nanoparticle Research.* 2008; 11: 67 - 75.

V.A. Gremyachikh, I.I. Tomilina

THE STUDY OF BIOLOGICAL EFFECTS OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES ISOFORMS ON PLANKTONIC CRUSTACEANS *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILLJEBORG

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, 152742 Borok, Yaroslavl region, Russian Federation

The influence of different concentrations of TiO₂ nano-particles water suspensions (anatase and rutile isoforms) on survival and fertility of cladocerans *Ceriodaphnia affinis* was investigated. A statistically significant decrease of crustaceans survival in 400 mg/l and 100 mg/l anatase water suspensions over 7 days was observed. Median life span of animals authentically differed from control values in rutile 2.00 mg/l and 0.2 mg/l suspensions and anatase in all studied concentrations. The indicator value decreased with an increasing substance concentration ($r=-0.21$; $p < 0.02$). TiO₂ isoforms produced negative effect on the *Ceriodaphnia* reproduction function. An authentic reduction of crustaceans total fertility over life span was recorded for anatase in concentrations of 0.2 mg/l and 0.02 mg/l and rutile in concentration of 0.2 mg/l. Anatase having equal concentrations with rutile posed a more expressed toxic effect on *Ceriodaphnia* which is linked to its lesser particles size.

Keywords: titanium dioxide, nanoparticles, toxicity, ceriodaphnia.

Материал поступил в редакцию 04.09.2013 г.

БЮЛЛЕТЕНЬ



Российского регистра потенциально
опасных химических
и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 615.9

МИКРООРГАНИЗМ YARROWIA LIPOLYTICA 2КР ВКПМ Y-4043

Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрябина¹, Л.И. Мясина¹,
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 «Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ
РФ, 119991 г. Москва, Российская Федерация

Оценена опасность микроорганизма Микроорганизм *Yarrowia lipolytica* 2кр ВКПМ Y-4043 для здоровья человека. Рекомендованы для утверждения ПДК_{р.з.} *Yarrowia lipolytica* 2кр ВКПМ Y-4043 на уровне 5×10^2 кл/м³, пометка А; ПДК_{а.в.} - 50 кл/м³, пометка А

Ключевые слова: микроорганизм *Yarrowia lipolytica* 2кр ВКПМ Y-4043, опасность, ПДК_{р.з.}, ПДК_{а.в.}

Дрожжевая культура *Yarrowia lipolytica* 2кр выделена из загрязненных нефтепродуктами воды/стоков Московской области, природный изолят. Отобран по способности эффективно снижать содержание нефти в загрязненной ею воде, песке и почвах. Растет на средах с гексадеканом и нефтью в качестве единственных источников

углерода. Является компонента биопрепарата Ремисойл по биоремедиации почв, грунтов, водоемов и стоков от нефти и нефтепродуктов.

По результатам проведенного анализа нуклеотидной последовательности, кодирующей часть 18S рРНК исследуемого штамма, установлено что исследуемый штамм *Yarrowia lipolytica* (98%)

Шейна 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

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

Мясина 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

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

Аэроб. Способен к росту на средах, содержащих источники углерода. Мезофил. Рост очень хороший – через 24 часа при 25-28°C образует колонии на глюкозо-пептонном агаре. При температуре 42°C не растет. Выдерживает концентрации хлорида натрия до 1% и немного более.

Штамм растет на жидких и агаризованных средах (МПА, АГВ, картофельный агар). Можно культивировать на LB агаре и бульоне или глюкозо-минеральной среде. На LB-агаре на 2-е и 3-и сутки вырастают колонии белого цвета, сухие, круглые, поднимающиеся над агаром. Края колонии ровные, у старой культуры возможно образование складок и концентрических кругов различной плотности. Максимальный диаметр – 10-12 мм.

Клетки круглые, эллипсоидные или удлинённые. Бесполое размножение – многосторонним почкованием на узком основании. Образуется псевдомицелий или истинный мицелий, который может иногда распадаться на артрспоры. Аски не конъюгативные, образуются из диплоидных клеток гиф. Оболочка аска быстро растворяется. В аске 1-4 аскоспоры, шаровидные, полусферические или шляповидные.

Способен расти в присутствии циклогексимида, обладает уреазой, нитрат не использует, сахара не сбраживает. В роде один вид, известный своей способностью к интенсивному образованию липолитических и протеолитических ферментов. Телеоморфа – *Candida paralipolytica*. Встречается у человека и других млекопитающих, в зерне, маслах и нефтепродуктах. Штамм *Yarrowia lipolytica* 2кр депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером ВКПМ У-4043.

В процессе экспериментальных исследований были изучены патогенные свойства, влияние микроорганизма на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммунотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД).

Для характеристики возможных патогенных свойств штамма *Y. lipolytica* 2кр ВКПМ У-4043 в экспериментальных условиях на мышах были определены следующие параметры: средневирulentная доза, «пороговая» доза, токсигенность и способность к диссеминации штамма в кровь и внутренние органы в течение 30 дней.

Показано, что при однократном внутрибрюшинном введении высоких доз микроорганизм не проявляет вирулентных свойств ($DV_{50} > 3 \times 10^{10}$ кл/жив.). «Пороговая» доза микроорганизма в наших экспериментах составила 3×10^{10} микробных клеток/жив. при однократ-

ном внутрибрюшинном введении штамма, что свидетельствует о низкой способности штамма к инвазивности из брюшной полости в кровяное русло и не превышает допустимых значений, представленных в нормативных документах. В соответствии с методическими рекомендациями (1992г.) «пороговая» доза для непатогенных штаммов должна составлять более 10^7 кл/жив.

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

Результаты исследования способности к диссеминации изучаемого штамма показали, что *Y. lipolytica* 2кр обладает способностью к кратковременному персистированию в организме теплокровных животных в течение 3-10 дней при однократном внутрибрюшинном введении микроорганизма в дозе $3 \times 10^{10-8}$ кл/жив., но не способен к диссеминации в крови и внутренних органах.

Обследование экспериментальных животных показало, что воздействие штамма в двух концентрациях (5×10^3 и 5×10^4 кл/м³) в течение 1 месяца не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось нами по динамике массы тела в процессе эксперимента и в восстановительном периоде.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств микроорганизма установлено отсутствие изменений коэффициентов массы иммунокомпетентных органов (тимус, селезенка) экспериментальных животных по сравнению с животными контрольной группы. В лейкограмме периферической крови подопытных животных при воздействии большой концентрации штамма обнаружено достоверное изменение относительного содержания лимфоцитов в сторону снижения, сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов в сторону увеличения. Отмечено изменение баланса иммунокомпетентных клеток в сторону значимого снижения Т-лимфоцитов и тенденции к увеличению В-лимфоцитов, а также снижения соотношения Т/В.

При оценке сенсibiliзирующей активности штамма в эксперименте выявлено формирование клеточной реакции немедленного типа (ГНТ) на крысах при воздействии штамма в обеих концентрациях.

В экспериментах на крысах ответ на эритроциты барана, оцениваемого по титрам гуморальных антител-гемагглютининов, был аналогичен таковому в контрольной группе как по средним

значениям, так и вариабельности показателя внутри группы.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне хронического воздействия *Y. lipolytica* 2кр не происходит значимого изменения (дисбаланса) микробиоценоза кишечника крыс.

Штамм не оказывает ощутимого влияния на показатели анаэробной составляющей (бифидобактерии, лактобациллы) микробиоценоза кишечника. Вместе с тем отмечается влияние штамма в большой концентрации на высеваемость условно-патогенной микрофлоры (*E. faecium*, стафилококки). Коэффициент массы слепой кишки не различается у крыс контрольной и подопытных групп. В восстановительном периоде микрофлора кишечника крыс, подвергшихся воздействию дрожжевого гриба в обеих концентрациях, по качественным и количественным показателям не отличается от таковых контрольных животных.

Штамм при хроническом воздействии в обеих концентрациях не обладал 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.

Анализ совокупности полученных экспериментальных данных свидетельствует о том, что пороговая концентрация находится на уровне 5×10^3 кл/м³

В настоящее время различные представители рода *Candida* имеют законодательно утвержденные гигиенические нормативы – *C. lipolytica*, *C. maltosa*, *C. scotti*, *C. tropicalis*, *C. valida*, *C. utilis*. Величины ПДК этих штаммов в воздухе рабочей зоны находятся в пределах от 2×10^2 до 10^3 кл/м³, а величины ПДК в атмосферном воздухе населенных мест – в пределах от 20 до 10^2 кл/м³ (ГН 2.1.6.2177-07 и ГН 2.2.6.2178-07, утверждены постановлением Главного государственного врача Российской Федерации от 06.03.2007, № № 9, 10). Исходя из собственных данных и принимая во внимание величины ПДК родственных микроорганизмов в таксономическом отношении, рекомендована ПДК штамма *Y. lipolytica* 2кр ВКПМ Y-4043 на уровне 5×10^2 кл/м³, пометка А, ПДК_{а,в} – на уровне 50 кл/м³, пометка А.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологиче-

ского синтеза. Мет. реком., РГМУ, М., 1992, 22 с.

2. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микро-

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

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. Guidelines on experimental justification of the limit permitted concentration of

producing microorganisms and their containing strains products in industrial and environmental objects. N5789/1-91. - M., 1991. - 22 p. (in Russian).

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).

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

MICROORGANISM *Yarrowia lipolytica* 2 kp ВКПМ Y-4043

¹ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, RF Ministry of Healthcare, Russian Federation

² I.M. Sechenov Moscow State Medical University, RF Ministry of Health, 119991 Moscow, Russian Federation

Hazard assessment of the microorganism *Yarrowia lipolytica* 2 kp ВКПМ Y-4043 to human health was carried out. TLV/TWA_{working zone} on the level of 5×10^2 cells/m³, mark A, and TLV/TWA_{atmospheric air} on the level of 50 cells/m³, mark A for *Yarrowia lipolytica* 2 kp ВКПМ Y-4043 are recommended for approval.

Key words: microorganism *Yarrowia lipolytica* 2 kp ВКПМ Y-4043, hazard, TLV/TWA_{working zone}, TLV/TWA_{atmospheric air}

Материал поступил в редакцию 12 ноября 2014 г.

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ



■ *Легеза В. И.,
Гребенюк А. Н.,
Бояринцев В. В.*

Комбинированные радиационные поражения и их компоненты. – СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2015. – 216 с.
ISBN 978-5-93929-254-2

В книге изложены современные представления о патогенезе, клинике, диагностике и лечении комбинированных радиационных поражений. Приведены основные определения, виды комбинированных радиационных поражений и их классификация. Представлены сведения о механизме развития и клинических проявлениях лучевого компонента, существующих подходах к его биодозиметрии, профилактике и лечению. Описана клиника, диагностика, патогенетически обоснованные средства и методы лечения ожогового компонента. Подробно охарактеризован механический компонент комбинированных радиационных поражений, включая современные представления о патогенезе и возможностях лечения травматического шока, ран мягких тканей, переломов костей, повреждений груди, живота, позвоночника, черепа и головного мозга.

Книга предназначена для специалистов в области радиационной медицины, гематологов, хирургов, травматологов, комбустиологов. Она может быть рекомендована в качестве учебного пособия для студентов, ординаторов, слушателей циклов профессиональной переподготовки и повышения квалификации, а также для аспирантов и преподавателей медицинских вузов.

Авторами книги являются ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского испытательного института военной медицины Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, лауреат Государственной премии СССР, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор Легеза Владимир Иванович, ректор Института дополнительного профессионального образования «Экстремальная медицина» Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России, доктор медицинских наук, профессор Гребенюк Александр Николаевич, Главный врач Клинической больницы № 1

Управления делами Президента РФ, заведующий кафедрой скорой медицинской помощи, неотложной и экстремальной медицины Учебно-научного медицинского центра Управления делами Президента РФ, доктор медицинских наук, профессор Бояринцев Валерий Владимирович.

Рецензентами книги выступили профессор кафедры медицины катастроф Российской медицинской академии последиplomного образования Минздрава России заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор Васин Михаил Витальевич, заведующий кафедрой военно-полевой терапии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ – заместитель главного хирурга Минобороны России заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор Самохвалов Игорь Маркеллович, заведующий ожоговым отделением Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России – главный комбустиолог МЧС России доктор медицинских наук, доцент Шаповалов Сергей Георгиевич.

■ **Гигиенические аспекты и токсикология перхлоратов: монография**

Под ред. К.В. Котенко и В.С. Кушневой
Москва, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, 2014, 208 с.

ISBN 978-5905926-04-4

■ *Харкевич Д. А.*

Основы фармакологии

издательство: ГЭОТАР-Медиа
Москва, 2015 г.

в пер., Страниц: 720, Тираж: 1500

ISBN: 978-5-9704-3492-5

■ *Хаханина Т. И.*

Химия окружающей среды

издательство: Юрайт
Москва, 2015 г.

в пер., Страниц: 215, Тираж: доп. 100

ISBN: 978-5-9916-4842-4