



СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Об итогах конкурса Всероссийской общественной организации токсикологов на лучшую научно-исследовательскую работу по токсикологии, проводимого среди молодых ученых 2

Секунда А.А. Активность кардиоспецифичных ферментов и ранние морфологические изменения при воздействии различных концентраций металлов, поступающих с питьевой водой контрастного минерального состава 3

Назарова Е.А. Влияние сублетальной концентрации кадмия на ультраструктуру лейкоцитов головной и туловищной почек годовиков карпа (*Cyprinus carpio L.*) ... 7

Фролова Н.А. Биологическое действие кадмия при хроническом воздействии в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс 11

Забродский П.Ф., Германчук В.Г., Мандыч В.Г., Иванов Д.Ю. Сочетанное действие хлорированных углеводородов в условиях высокой температуры воздуха на систему иммунитета и перекисное окисление липидов 14

Сычева Л.П., Шереметьева С.М., Кривцова Е.К., Журков В.С., Головач Е.Н., Полякова Е.Е., Синицына О.О. Оценка цитогенетической активности метиленового голубого и продуктов его фотодеструкции в полиорганоном микроядерном тесте на крысах 18

Пономаренко А.М., Степанова Н.Ю., Латышова В.З., Перевозников М.А. Особенности распределения ртути в тканях и органах рыб в модельном эксперименте 22

Цимбал Ф.А., Цимбал М.В., Субботина С.Н., Гончаров Н.В., Глашкина Л.М. Исследование порога чувствительности метода пуриллометрии при интоксикации фосфорорганическими соединениями 26

Корягина Н.Л., Савельева Е.И., Гончаров Н.В., Хлебникова Н.С., Радилов А.С. Применение метода газовой хроматографии с ионизационно-пламенным и масс-селективным детектированием для определения содержания фторацетата натрия в воде и биомедицинских пробах 29

Юбилейные даты

Ирина Владимировна Березовская
(к 70-летию со дня рождения) 36

Геннадий Иванович Рожнов
(к 70-летию со дня рождения) 37

Некролог

Куценко Сергей Алексеевич
(22.04.1948–25.12.2006) 38

БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ 40

Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам 44

Информация 45

Перечень химических и биологических веществ, прошедших государственную регистрацию (сообщение № 73) 47

Results of the competition organized by the Russian Society of Toxicology among young scientists for the best studies on toxicology 2

Sekunda A.A. Activity of cardio-specific enzymes and early morphological changes at exposure to metals different concentrations taken up with drinking water having a contrast mineral composition 3

Nazarova Ye.A. Influence of sub-lethal concentrations of cadmium on the ultra-structure of leukocytes in the kidney head and trunk of carp (*Cyprinus Carpio L.*) yearling 7

Frolova N.A. Cadmium biological effect at chronic exposure within antenatal and postnatal periods of the development of rats 11

Zabrodskiy P.F., Germanchuk V.G., Mandych V.G., Ivanov D.Yu. Combined action of chlorinated hydrocarbons on the immune system under high temperature conditions of air and lipid peroxidation 14

Sychyova L.P., Sheremetyeva S.M., Krivtsova Ye.K., Zhurkov V.S., Golovach Ye.N., Polyakova Ye.Ye., Sinitcina O.O. Assessment of cytogenetic activity of methylene blue and products of its photo decomposition in a polyorganic micronuclear assay on rats 18

Ponomarenko A.M., Stepanova N.Yu., Latypova V.Z., Perevoznikov M.A. Specific character of the mercury distribution in fish tissues and organs studied in a model experiment 22

Tsimbal F.A., Tsimbal M.V., Subbotina S.N., Goncharov N.V., Glashkina L.M. Investigation of the sensitivity threshold of the pupillometry method at poisoning by organophosphorus compounds 26

Koryagina N.L., Savelieva Ye.I., Goncharov N.V., Khlebnikova N.S., Radilov A.S. Determination of the concentration of sodium fluor acetate in water and biomedical samples using flame ionization and mass-selective gas chromatography 29

Anniversaries

Irina Vladimirovna Berezovskaya
(her 70th anniversary) 36

Gennadiy Ivanovich Rozhnov
(his 70th anniversary) 37

Obituary

Kutsenko Sergey Alekseyevich
(22.04.1948–25.12.2006) 38

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

News on toxicity and hazard of chemical and biological substances 40

New publications on toxicology and related disciplines 44

Information 45

List of chemical and biological substances registered on the state level (list № 73) 47

ОБ ИТОГАХ КОНКУРСА

Всероссийской общественной организации токсикологов на лучшую научно-исследовательскую работу по токсикологии, проводимого среди молодых ученых (возраст до 35 лет) и оформленную в виде журнальной статьи

Условия конкурса были опубликованы в журнале «Токсикологический вестник», № 3, за 2006 г.

На конкурс поступило 9 работ из Ульяновска, Обнинска, Ростова-на-Дону, Воронежа, Ярославля, пос. Борок, Иркутска.

Жюри, внимательно изучив работы конкурсантов, приняло решение о присуждении по одной премии за 1-ое, 2-ое и 3-е места.

1-ое место и премия в размере 3000 р. присуждены **Секунде Андрею Андреевичу** – аспиранту Иркутского государственного медицинского университета за работу «Активность кардиоспецифичных ферментов и ранние морфологические изменения при воздействии различных концентраций металлов, поступающих с питьевой водой контрастного минерального состава».

2-ое место и премия в размере 1500 р. присуждены **Назаровой Екатерине Александровне** – аспирантке института биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН за работу «Влияние сублетальной концентрации кадмия на ультраструктуру лейкоцитов головной и туловищной почек годовиков карпа (*Cyprinus carpio l.*)».

3-е место и премия в размере 1000 р. присуждены **Фроловой Наталье Александровне** – сотруднику Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН за работу «Биологическое действие кадмия при хроническом воздействии в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс».

Работы номинантов конкурса публикуются в этом номере журнала. Победители конкурса награждаются также бесплатной годовой подпиской на журнал «Токсикологический вестник» на 2007 год.

Конкурсная комиссия сожалеет об отсутствии среди участников конкурса представителей клинической токсикологии.

ВООТ поздравляет победителей, благодарит всех участников и желает успеха в последующих конкурсах.

Правление ВООТ

УДК 613.31.074+612.015.31

А.А.Секунда*

**АКТИВНОСТЬ КАРДИОСПЕЦИФИЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ И РАННИЕ
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ
КОНЦЕНТРАЦИЙ МЕТАЛЛОВ, ПОСТУПАЮЩИХ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ
КОНТРАСТНОГО МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА***ГОУ ВПО «Государственный медицинский университет», Иркутск*

Изучено комбинированное действие различных концентраций никеля, ванадия и меди в слабоминерализованной питьевой воде, а также их воздействие с водой, обогащенной солями Ca^{2+} и Mg^{2+} на миокард животных. Выявлены ранние морфологические изменения в миокарде и изменения активности кардиоспецифичных ферментов, лактатдегидрогеназы и креатининфосфокиназы при употреблении питьевой воды контрастного минерального состава.

Ключевые слова: слабоминерализованная вода, металлы, соли Ca^{2+} и Mg^{2+} , сердце.

Введение. В последние десятилетия в Российской Федерации, как и во всех экономически развитых странах, на фоне роста общей заболеваемости особое внимание заслуживает проблема сердечно-сосудистой патологии. Для успешного решения данного вопроса, учитывая многофакторность данной патологии, требуется проведение широких профилактических мероприятий.

К настоящему времени в России, США, Великобритании, Японии проведено большое число клинических и гигиенических исследований, выявивших новые экологические аспекты в учении о причинах возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, о влиянии качества питьевой воды на формирование данной патологии [1, 2, 8, 9].

Особое внимание в литературе, с гигиенической точки зрения, уделяется проблеме негативного влияния на здоровье населения слабоминерализованных вод с дефицитом кальция, натрия и магния, обуславливающих повышение уровня заболеваний сердечно-сосудистой системы. Слабоминерализованная вода является одним из факторов риска формирования ИБС и артериальной гипертензии [6, 2, 1, 4, 11, 12].

Согласно данным отечественных и зарубежных исследователей питьевая вода может оказывать влияние на развитие сердечно-сосудистых заболеваний вследствие содержащихся в воде микроэлементов антропогенного происхождения и их биологической активности. К таким веществам относятся, например, никель, ванадий, медь, цинк [7, 8, 9].

Новые возможности для разработки программ по профилактике и совершенствованию организационных форм по снижению сердечно-сосуди-

стой патологии открывают гигиенические исследования, которые позволяют понять закономерности развития заболевания и объективно оценить причинную связь их с отдельными факторами риска.

Несмотря на многогранную биологическую роль цинка, его длительное поступление в малых концентрациях может оказывать неблагоприятное влияние на организм. В условиях контрастного минерального состава питьевой воды токсичность цинка увеличивается, приводя к нарушению белкового обмена и повреждению живых клеток, вызывая в них коагуляционный некроз, снижая также количество гемоглобина в крови.

Медь ускоряет окисление липидов и характеризуется как атерогенный фактор. В сыворотке крови больных с инфарктом миокарда обычно наблюдается повышенное содержание меди. Отмечается увеличение содержания никеля в организме людей с ИБС. Изменения в миокарде наступают так быстро и выражены, что могут быть использованы для ранней диагностики и профилактики патологии миокарда [7, 10].

В последние годы появились сведения о том, что соединения многих металлов более токсичны при поступлении в организм с мягкой питьевой водой, чем при употреблении питьевой воды с повышенным содержанием солей Ca^{2+} и Mg^{2+} [3]. На основании чего возникла необходимость в проведении экспериментальных исследований по обоснованию степени токсичности металлов антропогенного происхождения и оптимизации качества питьевой воды. Представляется целесообразным оценить возможность применения солей Ca^{2+} и Mg^{2+} , как средств массовой профилактики сердечно-сосудистой патологии.

Целью настоящей работы явилось выявление эффектов комбинированного действия различ-

* Фрагмент диссертационной работы

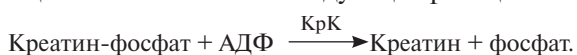
ных концентраций соединений никеля, ванадия и меди в слабоминерализованной питьевой воде, а также их воздействия в водной среде, обогащенной солями Ca^{2+} и Mg^{2+} до оптимальных концентраций [13].

Материалы и методы исследования. В соответствии с унификацией методических приемов, принятых в санитарной токсикологии, нами проведен хронический токсикологический эксперимент продолжительностью 4 месяца на 150 беспородных белых крысах-самцах с массой тела 180–230 г, разделенных на 2 серии по 4 группы. Для каждой серии выделена контрольная группа. Животных умерщвляли декапитацией.

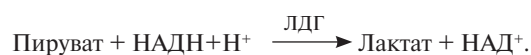
Изучаемые элементы с питьевой водой перорально вводили в организм подопытных животных через градуированные поилки. Питание и содержание всех групп было идентичным, за исключением водно-питьевого режима. Все концентрации были рассчитаны на ионы исследуемых металлов.

Животные первой серии ежедневно получали воду с содержанием металлов в различных концентрациях, вторая серия животных – воду с содержанием металлов в тех же концентрациях, с добавлением солей Ca^{2+} и Mg^{2+} до оптимальных концентраций (табл.).

У подопытных животных в динамике через 1, 2 и 4 месяца в сыворотке крови на спектрофотометре СФ-46 определяли активность ферментов: креатининфосфокиназы (КФК) и лактатдегидрогеназы-рага (ЛДГ₁). Кинетическое определение КФК проводили согласно методу, рекомендованному IFCC (Bioson), после реактивации N-ацетилцистеином согласно следующей реакции:



ЛДГ₁ по методу, рекомендованному SFBC (Bioson). Кинетическое определение ЛДГ активности:



Морфологическое исследование органов крыс (сердце) проводили на электронном просвечивающем микроскопе LEO 906E (Германия) на базе Иркутского государственного лимнологического университета. Толщина срезов 0,5–1 μm из 5 участков левого желудочка сердца от трех животных.

Результаты исследования и обсуждение. При повреждении клеток миокарда происходит выход ферментов из сердечных клеток в кровотоки, что ведет к повышению активности ферментов лактатдегидрогеназы-рага и креатининфосфокиназы и указывает на степень повреждения миокарда. Исследованиями установлено статистически значимое повышение активности ЛДГ₁ (рис. 1) в сыворотке крови животных, подвергавшихся воздействию никеля, ванадия, меди в слабоминерализованной питьевой воде в группах с малыми концентрациями металлов ($p < 0,025$), на уровне ПДК ($p < 0,001$) и 100 ПДК ($p < 0,001$), в отличие от групп, где питьевую воду обогащали солями Ca^{2+} и Mg^{2+} до оптимальных концентраций. Во всех группах, подвергавшихся воздействию никеля, ванадия, меди в слабоминерализованной питьевой воде, отмечается статистически значимая ($p < 0,05$) тенденция роста активности ЛДГ₁ к окончанию эксперимента (рис. 1). В группах, получавших питьевую воду обогащенную солями Ca^{2+} и Mg^{2+} , активность ЛДГ₁ снижается к окончанию эксперимента в группах контроля ($p < 0,025$), с малыми концентрациями ($p < 0,05$), на уровне ПДК ($p < 0,05$) (рис. 1).

При динамическом наблюдении выявлен дисбаланс активности креатининкиназы (КрК) (рис. 2) в сыворотке крови животных, в группах с малыми концентрациями и ПДК. У крыс в группах контроля и 100 ПДК, подвергавшихся воздействию никеля, ванадия, меди в слабоминерализованной питьевой воде, отмечается

Таблица

Химический состав питьевой воды, используемый в эксперименте

Группа животных	Ингредиенты воды, мг/л				
	Cu	Ni	V	Ca	Mg
1 группа (м.к.)	0,004	0,0007	0,001	-	-
2 группа (ПДК)	1	0,02	0,1	-	-
3 группа (100 ПДК)	100	2	10	-	-
4 группа (м.к.)	0,004	0,0007	0,001	60*	25**
5 группа (ПДК)	1	0,02	0,1	60	25
6 группа (100 ПДК)	100	2	10	60	25
1-ый контроль	-	-	-	12,6	2,5
2-ой контроль	-	-	-	60	25

Примечание.* – оптимальная величина Ca^{2+} , ** – оптимальная величина Mg^{2+} , м.к. – малые концентрации

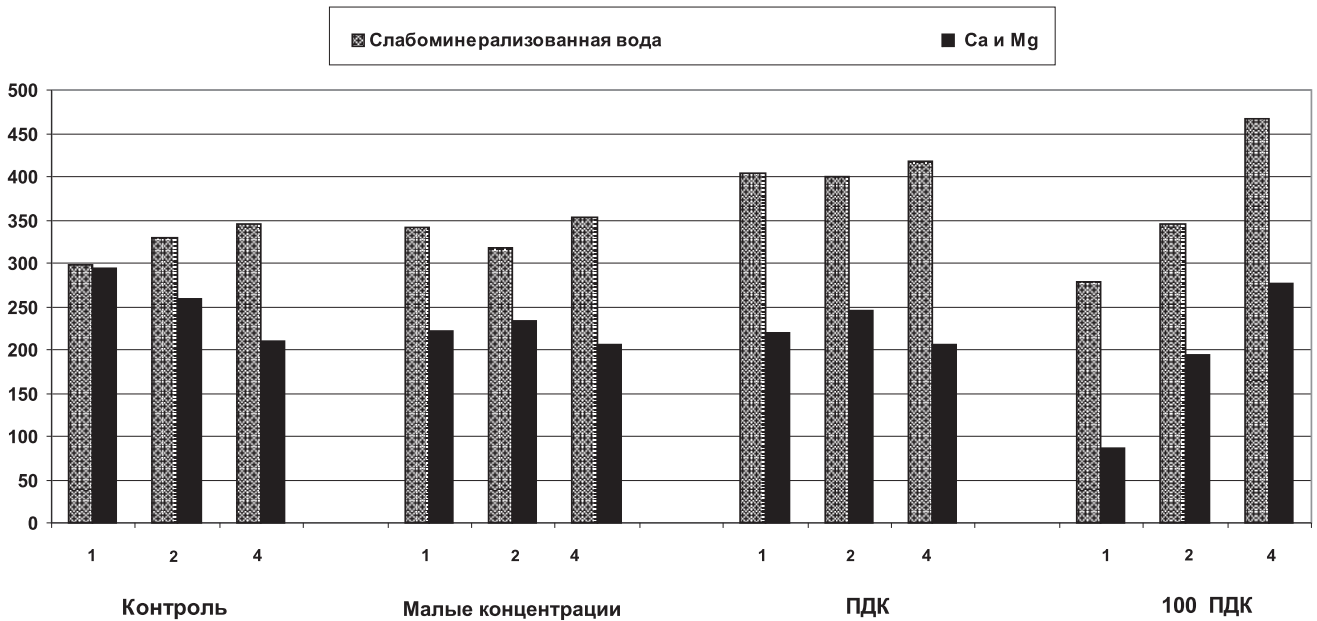


Рис. 1. Сравнительная характеристика активности ЛДГ₁ в сыворотке крови экспериментальных животных на фоне потребления питьевой воды разной минерализации.

По оси абсцисс – продолжительность опыта (в месяцах), по оси ординат – содержимое ЛДГ₁ (в сыворотке крови U/L)

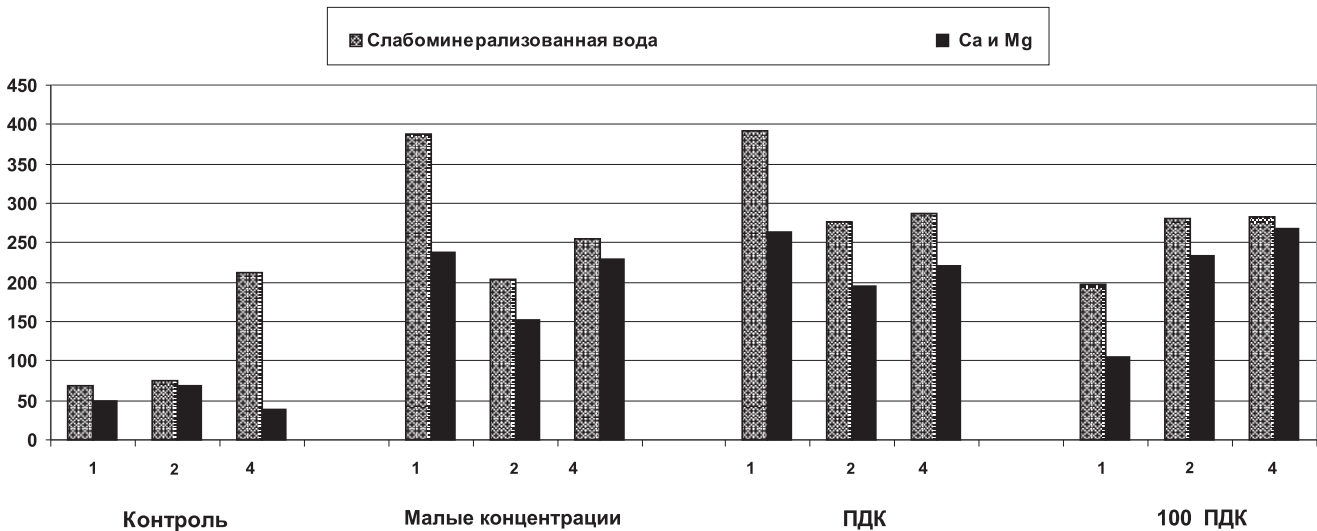


Рис. 2. Сравнительная характеристика активности креатинкиназы в сыворотке крови экспериментальных животных на фоне потребления питьевой воды разной минерализации.

По оси абсцисс – продолжительность опыта (в месяцах), название группы, по оси ординат – содержание креатинкиназы (в сыворотке крови U/L)

статистически значимое ($p < 0,001$) увеличение активности КрК к концу эксперимента. Обращает на себя внимание (рис. 2) тот факт, что во всех группах, где питьевая вода обогащена солями Ca^{2+} и Mg^{2+} активность КрК ниже ($p < 0,05$). К завершению эксперимента в группах контроля, с малыми концентрациями, ПДК активность КрК достоверно снижается ($p < 0,05$).

Для оценки морфологических изменений в сердце крыс, отражающих зависимость «доза-эффект», материал отбирался из групп контроля 1-го и 2-го, с малыми концентрациями металлов 1 гр. и 4 гр. (рис. 3 и 4) и на уровне ПДК 2 гр. и 5

гр. (рис. 5 и 6) на фоне потребления питьевой воды с низкой минерализацией и оптимальным содержанием минеральных веществ (Ca^{2+} и Mg^{2+}).

Результат проведенного исследования позволяет говорить о том, что в условиях потребления питьевой воды слабой минерализации и присутствующих в ней металлов в малых концентрациях и на уровне ПДК, приводит к значительному изменению ультраструктур миокарда. На рис. 3 и 4 показаны морфологически измененные ультраструктуры сердца. В группе с малыми концентрациями металлов частота встречаемости участков с измененными структурами составляет – 53,4%.

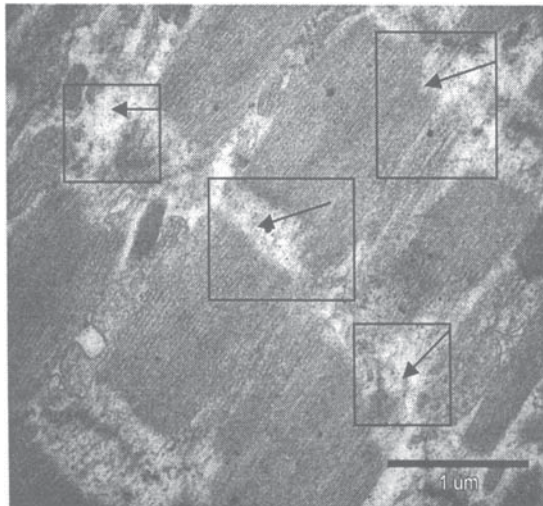


Рис. 3. Срез левого желудочка сердца крыс, получавших малые концентрации металлов с питьевой водой низкой минерализации.

Стрелками указаны морфологически измененные участки (рис. 3-6)

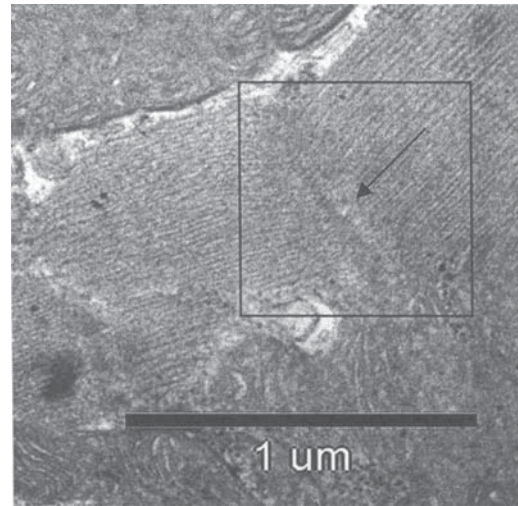


Рис. 5. Срез левого желудочка сердца крыс, получавших малые концентрации металлов с питьевой водой с оптимальным содержанием минеральных веществ (Ca^{2+} и Mg^{2+}).

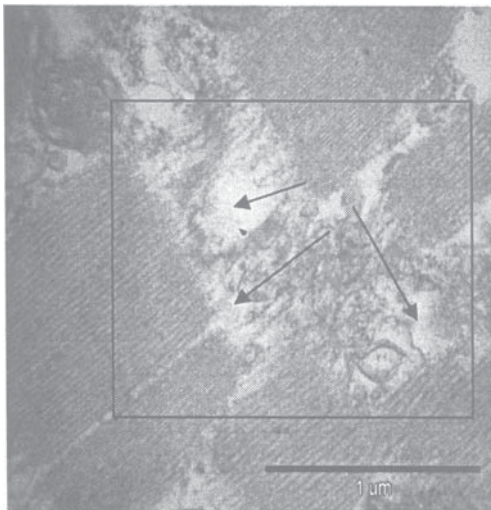


Рис. 4. Срез левого желудочка сердца крыс, получавших металлы с питьевой водой низкой минерализации на уровне ПДК.

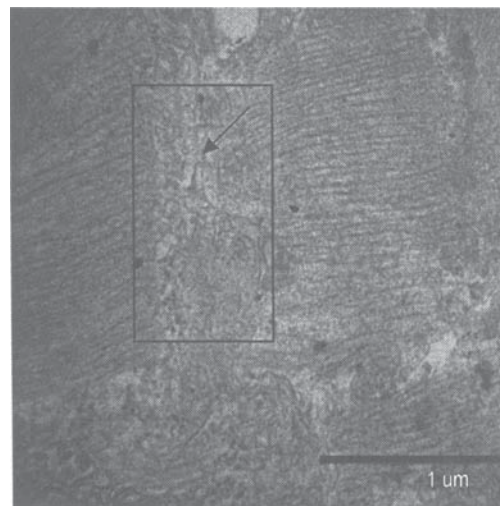


Рис. 6. Срез левого желудочка сердца крыс, получавших металлы на уровне ПДК с питьевой водой с оптимальным содержанием минеральных веществ (Ca^{2+} и Mg^{2+}).

В группе крыс, получавших металлы на уровне ПДК, частота встречаемости участков с измененными структурами составляет – 67,1%. У животных, подвергавшихся воздействию металлов в тех же концентрациях, но с питьевой водой, обогащенной солями Ca^{2+} и Mg^{2+} до оптимальных концентраций, изменения со стороны структур миокарда составляют 16,9% в группах с малыми концентрациями металлов и 20,6% в группах получавшие металлы на уровне ПДК (рис. 5 и 6).

Выводы. 1. Слабоминерализованная питьевая вода, содержащая Ni, V, Cu в испытанных концентрациях, приводит к повышению активности лактатдегидрогеназы рага в сыворотке крови.

2. Длительное употребление слабоминерализованной воды, содержащей Ni, V, Cu на уровне малых концентраций, ПДК и 100 ПДК, приво-

дит к дисбалансу активности креатининкиназы в сыворотке крови.

3. При длительном употреблении слабоминерализованной воды, содержащей Ni, V, Cu в малых концентрациях и на уровне ПДК, происходят значительные изменения ультраструктур сердца.

4. При употреблении питьевой воды, обогащенной солями Ca^{2+} и Mg^{2+} , повреждающий эффект металлов на сердце выражен меньше, чем при употреблении питьевой воды слабой минерализации.

5. Ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} оказывают защитный эффект для сердца при поступлении Ni, V, Cu в малых концентрациях и на уровне ПДК.

Список литературы

1. *Tetige G.E. Инфаркт миокарда и минеральное содержание питьевой воды. Med.Vd u S H 16, 1990.*

2. *Лутай Г.Ф.* Химический состав воды и здоровье населения // Гигиена и санитария, 1992. — № 1.

3. *Дульский В.А.* Гигиеническая оценка влияния питьевой воды на распространенность артериальной гипертензии. Автореф. дис... канд. мед. наук. — Иркутск, 1994.

4. *Секунда А.А., Игнатьева Л.П.* Оценка минерального состава воды р. Ангара, как основного источника водоснабжения населения г. Иркутска. Вопросы сохранения и развития здоровья населения Севера и Сибири. — Красноярск, 2003.

5. *Объедкова Г.Ю.* Изучение влияния воды повышенной минерализации на репродуктивную функцию женского организма и обоснование системы мероприятий по предупреждению ее вредного воздействия: Автореф. дис... канд. мед. наук. — Саратов, 1983.

6. *Кротков Ф.Г.* // Гигиена и санитария, 1973. — № 4. — С. 69-73.

7. *Seemayer N.H.* // Zbl. bakt. I. Abt. Orig. B, 1980. — Bd. 172. — S. 82-95.

8. *Calabrese E.J.* // Environ. Hith. Perspect., — 1983. — V. 8. — P. 99-106

9. *Минкина Н.А., Люблина Е.И., Чекунова М.П. и др.* О возможных проявлениях адаптации организма к действию промышленных ядов // В сб: Актуальные вопросы токсикологии. — Л., 1970. — С. 83-93.

10. *Игнатьева Л.П., Чирцова М.В., Потапова М.О. и др.* Оценка интегрального качества питьевой воды в распределительной сети г. Иркутска. Научно-практическая конференция, посвященная 75-летию медико-профилактического факультета иркутского государственного медицинского университета. — Иркутск, 2005. — С. 117-119.

11. *Секунда А.А., Игнатьева Л.П., Пройдакова О.А.* Гигиеническая оценка питьевой воды распределительной сети (на примере г. Иркутска). — М., 2006. СД.

12. Методика эколого-гигиенической оценки интегрального качества воды и риска здоровью населения. Пособие для врачей. — СПб: СПбГМА им. И.И. Мечникова, 2002. — С. 6-7.

Материал поступил в редакцию 09.11.06.

A.A.Sekunda

ACTIVITY OF CARDIO-SPECIFIC ENZYMES AND EARLY MORPHOLOGICAL CHANGES AT EXPOSURE TO METALS DIFFERENT CONCENTRATIONS TAKEN UP WITH DRINKING WATER HAVING A CONTRAST MINERAL COMPOSITION

State education establishment» State Medical University of Irkutsk

Studies were conducted on activity of different concentrations of nickel, vanadium and copper in slightly mineralized drinking water, as well as on their impact on animals myocardium in water enriched with Ca²⁺ and Mg²⁺ salts. Are found out early morphological changes in myocardium and changes in activity of cardio-specific enzymes, lactate dehydrogenase, creatine phosphokinase when drinking water of contrast mineral composition is in use.

УДК 574.632:574.64-591.461.2

Е.А.Назарова*

ВЛИЯНИЕ СУБЛЕТАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ КАДМИЯ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ЛЕЙКОЦИТОВ ГОЛОВНОЙ И ТУЛОВИЩНОЙ ПОЧЕК ГОДОВИКОВ КАРПА (*CYPRINUS CARPIO L.*)

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, пос. Борок, Ярославская обл.

Показано, что 14-суточная экспозиция кадмия в сублетальной концентрации приводит к изменению тонкой структуры лейкоцитов почек карпа. Отмечено преимущественное повреждение энергетических и информационных структур агранулоцитов и гранулоцитов, а также проявление фагоцитирующих способностей гранулоцитов. Указанные изменения свидетельствуют о функциональных нарушениях органов и ослаблении защитных функций организма.

Ключевые слова: кадмий, карп, головная почка, туловищная почка, лейкоциты.

Введение. Проблема высокой токсичности тяжелых металлов для гидробионтов даже

в незначительных концентрациях приобретает в последнее время все большую актуальность в связи с увеличением промышленных стоков во внутренние водоемы [3].

* Фрагмент диссертационной работы

Кадмий относится к наиболее токсичным для гидробионтов, в том числе рыб, тяжелым металлам [5]. Он легко поглощается из воды и накапливается в теле обитателей водоемов, при этом наибольшая концентрация кадмия обнаруживается в почках, печени и жабрах [10]. Известно, что кадмий инактивирует металлоферменты, и, как следствие, нарушает метаболические процессы, ингибирует окислительное фосфорилирование, синтез белков и нуклеиновых кислот [4]. Данный элемент, воздействуя на кровь и органы кроветворения, вызывает анемию, а также изменяет лейкоцитарную формулу крови [7, 8]. Однако информация о характере повреждений ткани и морфологических изменениях клеток крови в иммунокомпетентных органах в результате токсического эффекта малых концентраций кадмия на ранних сроках воздействия очень ограничена.

Целью настоящей работы было исследование действия сублетальной концентрации ионов кадмия на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток головной и туловищной почек карпа.

Материал и методы исследования. Эксперимент проводили на 10 карпах в возрасте 1+

Cyprinus carpio (длиной $17,18 \pm 0,93$ см и массой $108,35 \pm 15,6$ г). По 5 особей содержали в 150 литровых аэрируемых пластиковых аквариумах при ежедневном кормлении. Первая группа рыб находилась в водопроводной воде и служила контролем, вторая – в воде с добавлением хлорида кадмия (CdCl_2) до конечной концентрации 5 мг/л (в расчете по иону металла). Пробы тканей у обеих групп рыб отбирали через 14 суток экспозиции.

Кусочки головной и туловищной почки объемом 1 мм^3 подвергали двойной фиксации в 2,5% глютаральдегиде на 0,1М фосфатном буфере и 1% четырехоксида осмия (OsO_4) на том же буфере. Затем материал промывали в промывочном буфере, обезживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в Эпон 812 по стандартной методике [6]. Ультратонкие срезы толщиной 200–300 Е приготавливали на микротоме LKB 8800, контрастировали 0,2% водными растворами уранилацетата и цитрата свинца и просматривали под трансмиссионным электронным микроскопом JEM 100С.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что в контроле лимфомие-

Рис. 1. Тонкая структура агранулоцитов головной почки карпа

а – лимфоцит, контроль, $\times 13765$; б – лимфоцит, 14 суток экспозиции в сублетальной концентрации кадмия, $\times 24000$; в – макрофаг, контроль, $\times 12000$; г – макрофаг, 14 суток экспозиции в сублетальной концентрации кадмия, $\times 16900$.

Обозначения: МТХ – митохондрии, Ф – фагосома, ЦПЛ – цитоплазма, ЯМ – ядерная мембрана, ЯП – ядерная петля, Я – ядро.

лоидная ткань головной почки карпа содержала все типы лейкоцитов, характерные для этого вида рыб. Наиболее часто встречались лимфоциты, отмечено наличие небольшого количества плазматических клеток и макрофагов. Гранулоциты были представлены нейтрофилами, эозинофилами и базофилами разной степени дифференцировки. Зрелые формы клеток присутствовали в очень незначительных количествах.

В туловищной почке иммунокомпетентные клетки располагались в интерстициальной ткани. Соотношение типов этих клеток имело несколько иной характер по сравнению с головной почкой. Повсеместно встречали малые лимфоциты, макрофаги, реже наблюдали плазматические клетки. Большинство гранулоцитов было представлено зрелыми формами клеток. Среди таковых часто отмечали сегментоядерные нейтрофилы, реже – палочкоядерные эозинофилы, а также клетки смешанного типа, цитоплазма которых содержала специфичные гранулы, характерные как для эозинофилов, так и для базофилов и, крайне редко, базофилы с округлым ядром.

В норме тонкая структура всех типов лейкоцитов головной и туловищной почки карпа была подобна таковой, описываемой другими авторами у данного вида рыб [8, 9] (рис. 1а, в, рис. 2а).

Установлено, что кадмий оказал влияние на структуру клеток, как головной, так и туловищной почек исследуемых рыб. В первую очередь воздействию токсиканта подверглись цитоплазматические структуры: митохондрии – органоиды, выполняющие энергетическую функцию. Почти во всех клетках, как лимфоидного, так и миелоидного ряда, в обоих органах наблюдали просветление матрикса и частичное или полное разрушение крист митохондрий (рис. 2б). В ядрах некоторых лимфоцитов произошло образование ядерной петли, которая могла возникнуть в результате расслоения ядерной мембраны (рис. 1б). Увеличилось количество фагосом в макрофагах: если в почках контрольных рыб данные клетки содержали одну, реже – две фагосомы (рис. 1в), то после экспозиции в растворе кадмия были обнаружены макрофаги, цитоплазма которых была заполнена большим количеством фагосом (до 5–6 шт.) с остатками различных клеток (рис. 1г). Следует отметить опустошение специфичных гранул у части эозинофилов и клеток смешанного типа (рис. 2в). Мы предполагаем, что это связано с выбросом ферментов, находящихся в гранулах, который возник в ответ на воздействие токсиканта.

Вместе с тем, наблюдали изменения структуры лейкоцитов, характерные только для одного из исследуемых органов. Так, в головной почке были обнаружены фагоцитирующие нейтрофилы, тогда как в туловищной почке наблюдали появления фагосом только в гранулоцитах смешанного типа (рис. 2в). Наблюдае-

Рис. 2. Тонкая структура гранулоцитов карпа.

а – нейтрофил, головная почка, контроль, $\times 10790$; б – нейтрофил, туловищная почка, 14 суток экспозиции в сублетальной концентрации кадмия, $\times 35000$; в – клетка смешанного типа, туловищная почка, 14 суток экспозиции в сублетальной концентрации кадмия, $\times 12540$.

Обозначения: ОГ – опустошенные гранулы, рМТХ – разрушенные митохондрии, СГ – специфичные гранулы. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

мые нами изменения структуры иммунокомпетентных клеток, вызванные ионами кадмия в головной и туловищной почках карпа, были подобны изменениям, описываемым у других видов рыб [1, 2]. Сингалом и Джейном [11] было показано, что длительная экспозиция в растворе кадмия (концентрация 29 мг/л) приводила к увеличению патологических нарушений, включающих в себя повреждение паренхимы органов, гибель клеток лимфоидной ткани, токсический некробиоз и воспаление.

Заключение. Сублетальная концентрация ионов кадмия оказалась токсичной для клеток, как головной, так и туловищной почек карпа, вызвав повреждение структур клеток, ответственных за хранение наследственной информации и обеспечение энергией, а также проявление фагоцитирующих способностей гранулоцитов. Данные повреждения свидетельствуют о функциональных нарушениях органов и позволяют предположить об ослаблении защитных функций иммунитета в результате гибели лейкоцитов и, как следствие, снижению устойчивости рыб к различным заболеваниям.

Список литературы

1. Балабанова Л.В. Влияние кадмия на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток мозамбикской тиляпии *Oreochromis mossambicus* // *Цитология*, 1997. — Т. 39. — № 8. — С. 677-680.
2. Балабанова Л.В. Влияние кадмия на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток селезенки и почек осетра *Acipenser baeri* Brandt // *Биология внутренних вод*, 1998. — № 2. — С. 80-85.
3. Гамбарян С.П., Лаврова Е.А. Нефротоксическое действие соединений платины, хрома и кадмия на морских костистых рыб // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, 1993. — Т. 25. — № 6. — С. 729-735.
4. Коновалов Ю.Д. Связывание кадмия и ртути белками и низкомолекулярными тиоловыми соединениями рыб (обзор) // *Гидробиологический журнал*, 1993. — Т. 29. — № 1. — С. 42-51.
5. Линник П.Н., Искра И.В. Кадмий в поверхностных водах; содержание, формы нахождения, токсическое действие // *Гидробиологический журнал*, 1997. — Т. 33. — № 6. — С. 72-87.
6. Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. — СПб.: Наука, 1994. — 400 с.
7. Микряков В.Р., Балабанова Л.В. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. — М.: Наука, 2001. — 126 с.
8. Степанова В.М., Павлов Д.Ф., Чуйко Г.М. Хроническое действие кадмия на клетки ретикулолимфоидной ткани селезенки и периферической крови мозамбикской тиляпии // *Биология внутренних вод*, 1998. — № 3. — С. 68-75.
9. Bielek E. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Blutzellen der Teleostier. III. Granulocyten // *Zool. Jb. Anat.*, 1980. — В. 103. — Н. 35. — S. 105-121.
10. Cenini P. The ultrastructure of leucocytes in carp (*Cyprinus carpio*) // *J. Zool.*, 1984. — V. 204. — № 4. — P. 509-520.
11. Hans de Smet, Ronny Biust. Stress Responses and changes in Protein Metabolism in carp (*Cyprinus carpio*) during cadmium exposure // *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001. — V. 48. — № 3. — P. 17-22.
12. Singhal R.N., Jain M. Cadmium induced changes in the histology of kidneys in common carp, *Cyprinus carpio* (*Cyprinidae*) // *Bull. Environ. Contam and Toxicol*, 1997. — V. 58. — № 3. — P. 456-462.

Материал поступил в редакцию 31.08.06.

Ye.A.Nazarova

INFLUENCE OF SUB-LETHAL CONCENTRATIONS OF CADMIUM ON THE ULTRA-STRUCTURE OF LEUKOCYTES IN THE KIDNEY HEAD AND TRUNK OF CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.) YEARLING

I.D.Papanin Institute of Inland Waters Biology, Russian Academy of Sciences, Borok, Yaroslav Region

It was shown that a 14 day exposure of carps to a cadmium sub-lethal concentration induced changes in the fine structure of their kidney leukocytes. It was noted that energy and information structures of agranulocytes and granulocytes were primarily damaged and that phagocytic capacities of granulocytes became apparent. The said changes show functional disturbances in organs and slackening of protective functions of the organism.

УДК 612.64.014.46:546.48

Н.А.Фролова*

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КАДМИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ В АНТЕНАТАЛЬНЫЙ И ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ РАЗВИТИЯ КРЫС*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН, Обнинск*

Показано, что хроническое воздействие кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс приводит к модификации количества форменных элементов крови и клеточности органов, интенсивности процесса перекисного окисления липидов в плазме крови. Обнаруженные изменения зависят от концентрации металла в питьевой воде и длительности его поступления. Предполагается, что на 4-м мес. исследования изменения носят компенсаторно-приспособительный характер и свидетельствуют о формировании адаптивно-защитных реакций организма. Дальнейшее поступление кадмия с питьевой водой в течение 7 и 12 мес. постнатального периода развития приводит к развитию патологических реакций в организме крыс.

Ключевые слова: кадмий, эритроциты, лейкоциты, перекисное окисление липидов, крысы.

Введение. Главными источниками поступления кадмия в окружающую среду являются предприятия по добыче и переработке цветных и черных металлов, транспорт, химическая и сельскохозяйственная промышленности [1]. Глобальное годовое поступление кадмия в результате антропогенной эмиссии составляет 7200 т. В промышленно развитых районах концентрация кадмия превышает нормативы в десятки раз, а около мощных источников выброса – в сотни и тысячи раз [2].

Кадмий относится к группе металлов, обладающих высокой эмбриотоксичностью и канцерогенностью [3, 4]. В организм млекопитающих он поступает с пищей и водой и накапливается в почках, печени, селезенке, тимусе. Кадмий обладает высокой кумулятивной способностью и очень медленно выводится из организма. На всасывание металла в желудочно-кишечном тракте млекопитающих влияет возраст, пол, беременность и лактация. В период беременности животных кадмий проникает через плацентарный барьер и оказывает влияние на потомство [5].

Целью работы стала оценка биологических эффектов кадмия при хроническом воздействии в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс.

Материалы и методы исследования. Эксперименты были проведены на первом поколении крыс линии Вистар, родители которых за месяц до спаривания получали питьевую воду с нитратом кадмия (антенатальное воздействие). Подопытные животные в течение 12 мес. пост-

натального периода развития также получали питьевую воду с кадмием.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Животные были разделены на три группы, по 15 голов в каждой. Первая и вторая группы взамен питьевой воды получали раствор нитрата кадмия в концентрации 0,05 и 0,1 мг/л по иону металла, соответственно. Третья группа служила контролем. На 4, 7 и 12 мес. постнатального периода развития у животных под нембуталовым наркозом отбирали пробы крови. Клетки селезенки, почек и печени получали согласно общепринятым методам.

Биологическое действие нитрата кадмия оценивали на основе клинико-гематологических показателей [6, 7] и интенсивности процесса перекисного окисления липидов [8].

Клеточность органов (печень, почки, селезенка) рассчитывали по формуле:

$Клеточность = Y/m$, где m – вес кусочка ткани, мг; Y – количество клеток.

Для этого из средней части органа брали кусочки ткани и взвешивали. Затем растирали тефлоновым пестиком в пробирке с небольшим объемом среды (140 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM HEPES, pH 7,4). Для почек и печени объем среды составлял 2 мл, а для селезенки – 4 мл. Гемолиз эритроцитов в суспензии клеток проводили с помощью жидкости Тюрка. Содержимое пробирок тщательно перемешивали и через 2 мин отбирали супернатант для подсчета клеток.

* Фрагмент диссертационной работы

Экспериментальный материал был обработан методом вариационной статистики. Различия значений считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Оценка гематологических показателей крыс при хроническом воздействии кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития выявила следующие особенности. У животных первой группы на 4-м

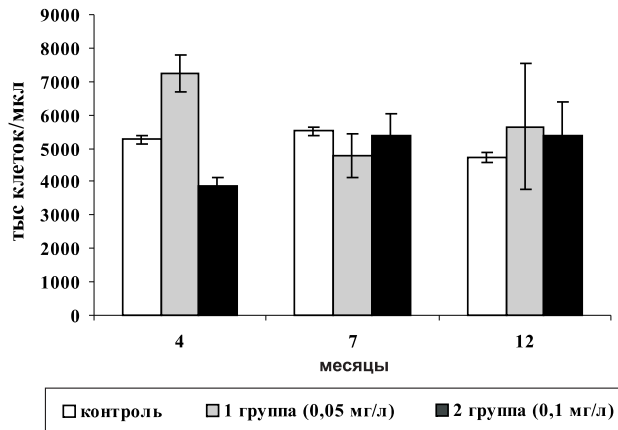


Рис. 1. Количество лейкоцитов в периферической крови при хроническом воздействии кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс

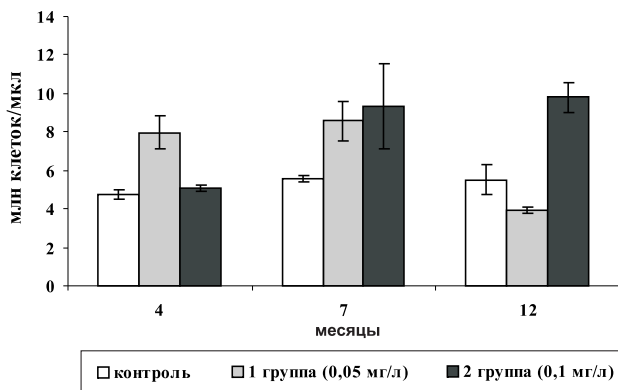


Рис. 2. Количество эритроцитов в периферической крови при хроническом воздействии кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс

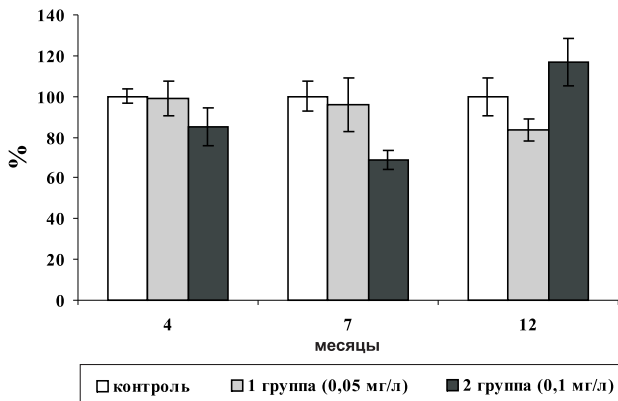


Рис. 3. Клеточность печени при хроническом воздействии кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс

мес. постнатального периода развития отмечали повышение количества лейкоцитов на 37% относительно контроля ($p < 0,05$). В дальнейшем (7 и 12 мес.) наблюдали снижение уровня показателя до контрольных значений. Напротив, у животных второй группы на 4-м мес. исследования регистрировали достоверное снижение количества клеток на 26%. В последующие сроки исследования существенных изменений не отмечали (рис. 1). В то же время определение количества эритроцитов у подопытных животных обнаружило повышение значений показателя на 4 и 7-м мес. исследования. На 12-м мес. постнатального периода развития у животных первой и второй групп отмечали разнонаправленный характер изменений, который зависел от концентрации нитрата кадмия в питьевой воде (рис. 2). Достоверное повышение значений показателя наблюдали во второй группе животных.

Следовательно, хроническое воздействие кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс приводило к модификации количества форменных элементов крови и отражала общую реакцию системы кроветворения.

Поступивший в организм крыс кадмий, в основном, накапливается в печени, почках и селезенке [9]. У животных первой группы в течение всего срока исследования отмечали снижение клеточности печени. Достоверные различия значений отмечали на 12-м мес. постнатального периода развития. У животных второй группы в начальные сроки исследования регистрировали более выраженные изменения относительно первой группы ($p < 0,05$). Напротив, на 12-м мес. постнатального периода развития у подопытных животных отмечали достоверное увеличение значений показателя относительно контроля (рис. 3).

Определение количества клеток почек выявило изменение клеточности органа. У животных первой группы на 4-м мес. постнатального периода развития наблюдали снижение количества клеток, а в последующие сроки исследования, напротив, отмечали тенденцию к повышению уровня показателя. Аналогичные изменения регистрировали у животных второй группы (рис. 4).

В то же время количество клеток селезенки у подопытных животных на 4-м мес. воздействия достоверно возросло на 50% по сравнению с контролем. На 7 и 12-м мес. исследования регистрировали снижение значений показателя (рис. 5). Наиболее выраженные изменения отмечали у животных второй группы. Предполагается, что обнаруженные изменения клеточности органов зависят от количества депонированного кадмия

и интенсивности пролиферации клеток.

Оценка интенсивности процесса перекисного окисления липидов выявила повышение содержания малонового диальдегида (МДА) в плазме крови (рис. 6). Наиболее выраженный характер изменений отмечали на 7 и 12-м мес. исследований. Вероятно, модификация интенсивности процесса перекисного окисления ли-

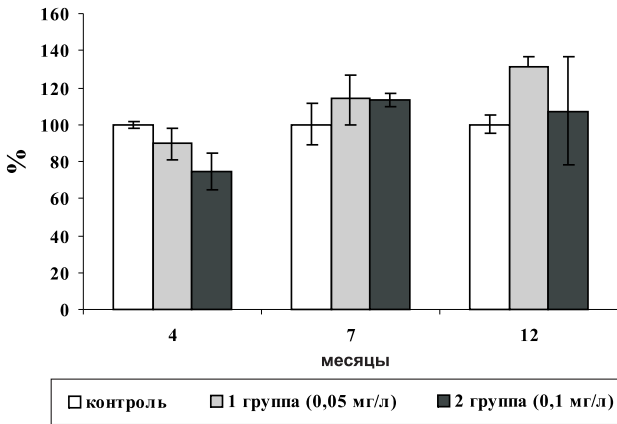


Рис. 4. Клеточность почек при хроническом воздействии кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс

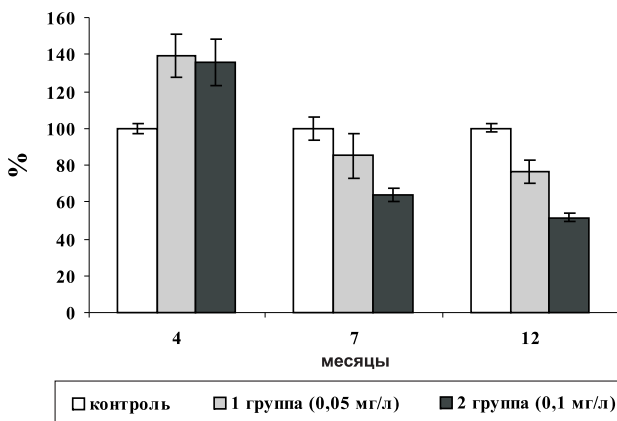


Рис. 5. Клеточность селезенки при хроническом воздействии кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс

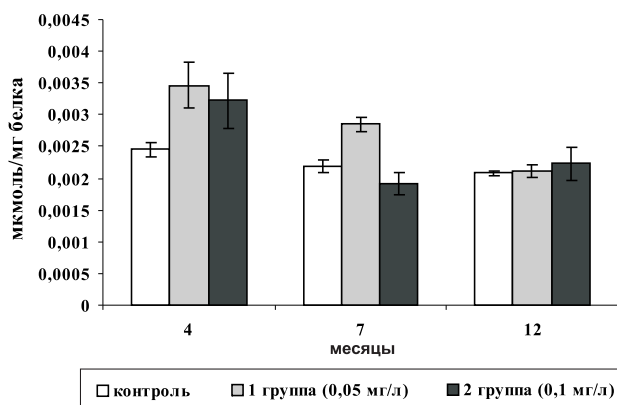


Рис. 6. Содержание МДА в плазме крови при хроническом воздействии кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс

пидов зависит от уровня биоантиоксидантов в организме и кадмий-индуцированного синтеза металлотioneинов. Это предположение подтверждают данные о том, что увеличение токсической нагрузки кадмия на организм млекопитающих (2,5 мг/кг) приводит к повышению интенсивности процесса перекисного окисления липидов при одновременном снижении уровня глутатиона и активности глутатион-трансферазы [10], супероксиддисмутазы [11]. Очевидно, что при длительном поступлении с питьевой водой концентрация кадмия в органах и тканях организма крыс повышается. Следствием этого является снижение уровня биоантиоксидантов в организме и активация процесса перекисного окисления липидов.

Закключение. Хроническое воздействие кадмия в антенатальный и постнатальный периоды развития крыс приводит к модификации количества форменных элементов крови и клеточности органов, интенсивности процесса перекисного окисления липидов в плазме крови. Обнаруженные изменения зависят от концентрации металла в питьевой воде и длительности его поступления. Предполагается, что на 4-м мес. исследования изменения носят компенсаторно-приспособительный характер и свидетельствуют о формировании адаптивно-защитных реакций организма. Дальнейшее поступление нитрата кадмия с питьевой водой в течение (7 и 12-м мес. постнатального периода развития) приводит к развитию патологических реакций в организме крыс.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и правительства Калужской области грант № 04-04-97217.

Список литературы

1. Рейли К. Металлические загрязнения пищевых продуктов. Пер. с англ. / Под ред. И.М.Скурихина. – М.: Агропромиздат, 1985. – 184 с.
2. Черных Н.А., Милащенко Н.З., Ладонин В.Ф. Экоотоксикологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами. – М.: Агроконсалт, 1999. – 176 с.
3. Foulkes E.C. Cadmium: Handbook of Experimental Pharmacology. Berlin: Springer-Verlag, 1986. – 300 с.
4. Lucis O.J., Lucis R., Aterman K. Tumorigenesis by cadmium. // Oncology, 1972. – V. 26. – P. 53-67.
5. Куценко С.А. Основы токсикологии. – СПб.: Фолиант, 2004. – 716 с.
6. Практикум по биохимии. / Под ред. Н.П.Мешкова, С.Е.Северина. – М.: Изд-во МГУ, 1979. – 430 с.
7. Антонов Б.И., Яковлева Т.Ф. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические: Справочник. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 8-9.

8. Гончаренко М.С., Латунова А.М. Методы оценки перекисного окисления липидов // Лабораторное дело, 1985. — № 1. — С. 60-61.

9. Karimkar R., Banik S. Bandyopadhyay, et al. Cadmium-induced alterations of hepatic lipid peroxidation, glutathione S-transferase activity and reduced glutathione level and their possible correlation with chromosomal aberration in mice: a time course study // Mutation res., 1998. — V. 397. — P. 183-190.

10. Hussain T., Shukla G., Chandra S. Effects of cadmium on superoxide and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: In vivo and vitro studies // Pharmacol. Toxicol., 1987. — V. 60 — P. 355-358.

11. Uribe A., Chavez E., Jemenez M. Characterization of Ca²⁺ transport in Euglena gracilis mitochondria // Biochem. Biophys. Acta, 1994. — V. 28. — № 1186 (1-2). — P. 107-116.

Материал поступил в редакцию 30.10.06.

N.A.Frolova

CADMIUM BIOLOGICAL EFFECT AT CHRONIC EXPOSURE WITHIN ANTENATAL AND POSTNATAL PERIODS OF THE DEVELOPMENT OF RATS

State research establishment « All-Russian Research Institute of agricultural radiology and agroecology, Russian Academy of Agricultural Sciences, Obninsk

It was shown that chronic exposure to cadmium in antenatal and postnatal periods of the development of rats led to a modified amount of blood formation elements and cellular structure of organs, intensified lipide peroxidation process in blood plasma. Identified alterations depend on metals concentrations in drinking water and time period of intake. It is supposed that alterations have a compensatory and accommodating character in the 4th month of the postnatal period and illustrate the formation of adaptive and protective responses of the organism. A further uptake of cadmium with drinking water (during 7 to 12 month of the postnatal period) leads to the development of pathological responses in the rat organism.

УДК [612.017.1+612.015.32].014.4

П.Ф.Забродский, В.Г.Германчук, В.Г.Мандыч, Д.Ю.Иванов

СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ХЛОРИРОВАННЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ВОЗДУХА НА СИСТЕМУ ИММУНИТЕТА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

Саратовский военный институт радиационной, химической и биологической защиты

В экспериментах на неинбредных мышах установлено, что сочетанное действие хлорированных углеводородов (дихлорэтана и трихлорэтилена) в дозе 0,5 DL₅₀ в/ж и высокой температуры воздуха приводит к суммации их иммуносупрессивных эффектов. Острое действие хлорированных углеводородов активизирует перекисное окисление липидов, которое усиливается при воздействии токсикантов в условиях высокой температуры воздуха.

Ключевые слова: дихлорэтан, трихлорэтилен, высокая температура воздуха, иммуносупрессия, перекисное окисление липидов.

Введение. Острые отравления хлорированными углеводородами (ХУ), которые широко используются в органическом синтезе, а также как экстрагенты, средства чистки и обезжиривания одежды, дезинфицирующие средства, растворители токсичных химикатов — ТХ (отравляющих веществ) [6, 8, 12, 13], характеризуются высокой смертностью (от 20 до 90%) [11, 12]. Данные соединения способны создавать очаги групповых (и даже массовых) острых отравлений при авариях на химических объектах, в частности, в процессе уничтожения ТХ. Высока вероятность сочетанного эффекта острого отравления ХУ с воздействием высокой температуры воздуха (ВТВ), что может приводить

к значительному увеличению смертности и инвалидизации больных вследствие инфекционного процесса, на течение которого существенное воздействие оказывает вторичное иммунодефицитное состояние. В настоящее время влияние на иммунную систему острого отравления ХУ в сочетании с действием высокой температуры воздуха практически не исследовано [7, 13]. Изучение данной проблемы, тесно связанной с исследованиями постстрессорных изменений в организме химической [15] и другой этиологии, имеет как теоретическое, так практическое значение для обоснования способов профилактики и лечения инфекционных осложнений и заболеваний.

Целью исследования явилось определение влияния острой интоксикации ХУ (дихлорэтан и трихлорэтилен) в сочетании с воздействием ВТВ на гуморальные и клеточные иммунные реакции и перекисное окисление липидов (ПОЛ).

Материал и методы исследования. Эксперименты проводили на беспородных мышах обоего пола массой 18–24 г. Использовали ХУ, значительно отличающиеся по степени токсичности, дихлорэтан (ДХЭ) и трихлорэтилен (ТХЭ), которые вводили *per os* в дозе 0,5 DL₅₀. (DL₅₀ ДХЭ и ТХЭ составляли соответственно 0,68±0,2 и 2,5±0,2 г/кг). Мышей подвергали действию высокой температуры воздуха (35°C) в термокамере в течение 1 ч. Сочетанное действие моделировали введением ХУ до воздействия высокой температуры. Гуморальную иммунную реакцию Т-зависимому (эритроцитам барана – ЭБ) определяли по титру антител, вызывающих гемолиз ЭБ в присутствии комплемента, выраженному в отрицательном двоичном логарифме (ОДЛ) [6]. Кроме того, гуморальный иммунный ответ к Т-зависимому и Т-независимому (Vi-Ag) антигенам оценивали через 4 сут по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке [6,14] после введения исследуемых соединений с одновременной внутрибрюшинной иммунизацией мышей данными антигенами в дозах 2·10⁸ клеток и 8 мкг/кг соответственно. Активность естественных клеток-киллеров определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) спектрофотометрически по числу оставшихся неразрушенными в ходе цитотоксического теста клеток-мишеней через 72 ч после применения ХУ по методу [4]. Антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) исследовали через 4 сут после иммунизации (ЭБ в дозе 10⁸ клеток) мышей, используя их спленоциты, спектрофотометрическим методом [9]. Формирование реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), отражающей функцию клеточного иммунного ответа (в частности, активность Т-хелперов первого типа – Th1), оценивали по приросту

студы (в %) массы стопы задней лапы мышей. При этом животных иммунизировали внутрибрюшинным введением 10⁸ ЭБ. Разрешающую дозу ЭБ (5·10⁸) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 сут. Реакцию ГЗТ определяли через 24 часа. При исследовании гуморальных и клеточных иммунных реакций мышей иммунизировали практически одновременно с введением ТХМ. Показатели ПОЛ и связанные с ними параметры антиоксидантной системы (АОС) крыс оценивали по активности каталазы и пероксидазы методом [2], содержанию малонового диальдегида (МДА) в крови спектрофотометрически [10] через 3 сут после введения ХУ.

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия достоверности Стьюдента.

Результаты исследования и обсуждение. Под влиянием острого отравления ДХЭ и ТХЭ происходило снижение гуморального иммунного ответа к Т-зависимому антигену, оцениваемому по отрицательному двоичному логарифму (ОДЛ) титра антител, соответственно в 1,34 и 1,22 раза ($p < 0,05$), а по числу АОК к ЭБ в селезенке – в 1,54 и 1,38 раза соответственно ($p < 0,05$). ДХЭ и ТХЭ вызывали редукцию иммунного ответа к Т-независимому антигену у мышей соответственно в 1,36 и 1,24 раза ($p > 0,05$). Содержание мышей при высокой температуре воздуха приводило к несущественному уменьшению данных параметров, а при сочетанном действии ХУ и ВТВ отмечалась суммация их иммуносупрессивных эффектов. Так, ВТВ снижала АОК к ЭБ и АОК к Vi-антигену соответственно в 1,32 и 1,22 раза ($p > 0,05$), а ее сочетанное действие с ДХЭ вызывало уменьшение данного показателя соответственно в 2,40 и 1,79 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем в 2,51 и 1,48 раза ($p < 0,05$). По сравнению с изолированным действием ВТВ ДХЭ вызывал супрессию Т-зависимого и Т-независимого антителообразования соответственно в 1,78 ($p < 0,05$) и 1,47 ($p > 0,05$) раза, а по сравнению с действием только токсичности

Таблица 1

Действие острой интоксикации хлорированными углеводородами в сочетании с высокой температурой воздуха на показатели гуморального иммунного ответа (M±m, n = 9–13)

Фактор		Титр антител к ЭБ, -log ₂ титра	АОК к ЭБ, 10 ³	АОК к Vi-Ag, 10 ³
Контроль	1	5,5±0,2	23,5±2,3	18,3±2,0
ВТВ	2	4,9±0,3	17,8±2,5	15,0±2,1
ДХЭ	3	4,1±0,3	15,3±1,9	13,5±1,4
ДХЭ + ВТВ	4	3,6±0,3	9,8±1,7	10,2±1,8
ТХЭ	5	4,5±0,4	17,0±2,0	14,7±1,6
ТХЭ _ ВТВ	6	3,9±0,3	12,1±1,8	11,1±1,5
Достоверность различий – p < 0,05		1–3, 1–4, 1–5, 1–6, 2–4	1–3, 1–4, 1–5, 1–6, 2–4, 3–4	1–4, 1–6

Таблица 2

Сочетанное действие хлорированных углеводородов (0,5 DL₅₀) и высокой температуры воздуха на показатели клеточного иммунного ответа (M±m, n = 9–13)

Фактор		ЕЦ,%	АЗКЦ,%	ГЗТ,% прироста массы стопы
Контроль	1	29,6±2,0	15,5±1,7	30,4±2,7
ВТВ	2	23,3±2,4	12,8±1,5	24,1±2,3
ДХЭ	3	20,6±2,2	10,2±1,4	22,0±2,4
ДХЭ + ВТВ	4	15,0±2,0	6,3±1,1	15,2±2,0
ТХЭ	5	18,3±2,1	11,0±1,6	20,9±2,5
ТХЭ + ВТВ	6	13,5±2,3	7,3±1,2	17,1±2,1
Достоверность различий – p < 0,05		1–3, 1–4, 1–5, 1–6, 2–4, 2–6	1–3, 1–4, 1–5, 1–6, 2–4, 2–6, 3–4	1–3, 1–4, 1–6, 2–4, 2–6, 3–4

Таблица 3

Влияние сочетанного действия острой интоксикации хлорированными углеводородами (0,5 DL₅₀) и высокой температуры воздуха на показатели перекисного окисления липидов у мышей через 3 сут (M±m, n = 9–13)

Серия опытов		Каталаза, ммоль/мин/л	Пероксидаза, мкмоль/мин/л	Малоновый диальдегид, нмоль/мл
Контроль	1	252,7±28,7	37,6±3,8	6,43±0,54
ВТВ	2	231,8±27,5	40,3±3,9	5,98±0,60
ДХЭ	3	145,2±25,0	25,7±2,4	8,56±0,58
ДХЭ + ВТВ	4	102,5±20,1	17,3±2,5	10,08±0,63
ТХЭ	5	168,0±26,8	28,0±2,3	7,90±0,50
ТХЭ + ВТВ	6	115,7±30,7	20,1±2,0	11,03±0,65
Достоверность различий – p < 0,05		1–3, 1–4, 1–5, 1–6	1–3, 1–4, 1–5, 1–6, 3–4, 5–6	1–3, 1–4, 1–5, 1–6, 3–4, 5–6

канта соответственно в 1,56 (p < 0,05) и 1,32 (p > 0,05) раза. Действие ТХЭ в условиях ВТВ снижало АОК к ЭБ и АОК к Vi-антигену соответственно в 1,94 и 1,65 раза (p < 0,05) по сравнению с контролем (табл. 1).

Острая интоксикация ДХЭ снижала ЕЦ, АЗКЦ и реакцию ГЗТ по сравнению с контролем соответственно в 1,44, 1,52 и 1,38 раза (p < 0,05), а ТХЭ – в 1,62, 1,41 и 1,45 раза соответственно (p < 0,05). Действие ВТВ приводило к редукции ЕЦ, АЗКЦ и реакции ГЗТ соответственно в 1,27, 1,21 и 1,26 раза (p > 0,05). Действие ХУ в условиях высокой температуры воздуха усиливало супрессию данных параметров. Так, сочетание ДХЭ и ВТВ снижало ЕЦ, АЗКЦ и реакцию ГЗТ по сравнению с контролем соответственно в 1,97, 2,46 и 2 раза (p < 0,05), а сочетанный эффект ТХЭ и ВТВ вызывал редукцию данных показателей в 2,19, 2,12 и 1,78 раза соответственно (p < 0,05) (табл. 2).

Иммуносупрессивные эффекты ДХЭ и ТХЭ в эквивалентной дозе существенно не отличались. Редукция иммунных реакций под влиянием ХУ обусловлена действием на иммунциты и процессы, определяющие их функцию, не только молекул ДХЭ и ТХЭ, но их высокотоксичных продуктов биотрансформации. Известно, что токсический эффект ДХЭ связан преимуще-

ственно с действием на мембраны и ферменты клеток различных органов его метаболитов – 2-хлорэтанола, хлоруксусного альдегида и хлоруксусной кислоты [6, 12, 13], а токсическое действие ТХЭ обусловлено действием неметаболизированной молекулы токсиканта, а также продуктами его биотрансформации трихлорацетальдегида, трихлорэтанола, дихлоруксусной, трихлоруксусной и шавелевой кислоты [13].

Увеличение иммунотоксического эффекта ХУ под влиянием ВТВ реализуется, видимо, в результате возрастания их токсичности [5,13] вследствие активации процессов биотрансформации токсикантов.

Иммуносупрессивный эффект после острой интоксикации ХУ сопровождался инициацией ПОЛ (табл. 3). Это характеризовалось уменьшением под влиянием ДХЭ активности каталазы и пероксидазы, характеризующей АОС, соответственно в 1,74 и 1,46 раза (p < 0,05), а при остром действии ТХЭ – в 1,50 и 1,34 раза (p < 0,05) соответственно. Основным продуктом ПОЛ МДА при остром отравлении ДХЭ и ТХЭ существенно повышался в 1,33 и 1,23 раза (p < 0,05) соответственно. Изменения показателей ПОЛ в крови отражают процесс свободнорадикального окисления липидов, как всех клеток организма, так и органов системы иммунитета и, в частно-

сти, лимфоцитов [7]. Активация ПОЛ под влиянием ХУ может являться одним из механизмов, приводящим к формированию постинтоксикационного иммунодефицитного состояния. После воздействия ВТВ на мышей показатели ПОЛ через 3 сут существенно не изменялись.

Однако острое действие ХУ в условиях ВТВ усиливало постинтоксикационную активацию ПОЛ. Так, сочетанное действие ДХЭ и ВТВ приводило к снижению активности каталазы и пероксидазы в 2,47 и 2,17 раза ($p < 0,05$) соответственно, а ТХЭ и ВТВ – 2,18 и 1,87 раза ($p < 0,05$) соответственно. При этом сочетание ДХЭ и ВТВ увеличивало содержание МДА в крови в 1,57 раза ($p < 0,05$), а сочетанный эффект ТХЭ и ВТВ – в 1,71 раза ($p < 0,05$). Увеличение ПОЛ хлорированными углеводородами в условиях ВТВ, возможно, реализуется в результате повышения их метаболизма, сопровождающееся образованием высокотоксичных продуктов. При этом изменение токсикокинетики ХУ в условиях ВТВ, по-видимому, характеризуется относительным снижением выделения неметаболизированных молекул ДХЭ и ТХЭ с увеличением биотрансформации этих молекул до более токсичных соединений.

Повреждающий эффект ПОЛ в отношении иммунокомпетентных клеток (ИКК) может состоять в том, что продукты распада гидроперекисей фосфолипидов взаимодействуют со свободными аминокетильными группами мембранных белков иммуноцитов, образуя межмолекулярные сшивки и инактивируя эти белки. Кроме того, активация ПОЛ вызывает окисление сульфгидрильных групп ИКК до сульфонов. Это приводит к инактивации мембраносвязанных ферментов и увеличению проницаемости мембран ИКК [1, 3].

Выводы. 1. Острое отравление хлорированными углеводородами и воздействие высокой температуры воздуха снижают основные гуморальные (преимущественно Т-зависимый иммунный ответ) и клеточные иммунные реакции.

2. Действие хлорированных углеводородов в сочетании с высокой температурой воздуха приводит к увеличению иммуносупрессивного эффекта токсикантов.

3. Острая интоксикация ХУ активирует ПОЛ, которое усиливается при воздействии ядов в условиях высокой температуры воздуха.

Список литературы

1. Арчаков А.И. Оксигенация биологических мембран. – М.: Медицина, 1993.
2. Валеева И.Х., Зиганишина Л.Е., Бурнашова З.А. и др. // Эксперим. и клин. Фармакология, 2002. – Т. 65. – № 2. – С. 40-43.
3. Геннис Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции: Пер. с англ. – М.: Мир, 1997. – 624 с.
4. Гордиенко С.М. // Иммунология, 1984. – № 1. – С. 31-36.
5. Забродский П.Ф. // Медицина труда и пром. экология, 1994. – Т. 123. – № 5-6. – С. 12-14.
6. Забродский П.Ф. Иммунотропные свойства ядов и лекарственных средств. – Изд. Саратовского мед. ун-та, 1998. – 214 с.
7. Забродский П.Ф. Влияние ксенобиотиков на иммунный гомеостаз // В кн.: Общая токсикология / Под ред. Б.А.Курляндского, В.А.Филова. – М.: Медицина, 2002. – С. 352-384.
8. Забродский П.Ф., Киричук В.Ф., Грызунов А.В. // Бюлл. exper. биол. и мед., 1997. – Т. 123. – № 1. – С. 51-53.
9. Зимин Ю.И., Ляхов В.Ф. // Иммунология, 1985. – № 1. – С. 27-30.
10. Коробейникова Э.Н. // Лаб. дело, 1989. – № 7. – С. 8-10.
11. Курашов О.В., Троцевич В.А. // Врачебное дело, 1992. – № 10. – С. 109-111.
12. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления: Руководство для врачей. 2-е изд., перераб и доп. – М.: Медицина, 2000. – 434 с.
13. Тиунов Л.А. Хлорпроизводные непредельных углеводов // Вредные химические вещества. Углеводороды. Хлорпроизводные углеводов: Справ. изд. / Под. ред. В.А. Филова и др. – Л.: Химия, 1990. – С. 438-454.
14. Jerne N.K., Nordin A.A. // Science, 1963. – V. 140. – № 4. – P. 405.
15. Pruett S.B., Fan R., Zheng Q. et al. // Toxicol. Sci., 2003. – V. 75. – № 10. – P. 343-354.

Материал поступил в редакцию 28.03.06.

P.F.Zabrodskiy, V.G.Germanchuk, V.G.Mandych, D.Yu.Ivanov

COMBINED ACTION OF CHLORINATED HYDROCARBONS ON THE IMMUNE SYSTEM UNDER HIGH TEMPERATURE CONDITIONS OF AIR AND LIPID PEROXIDATION

Saratov Military Institute of Radiation, Chemical and Biological Defense

It was established in experiments on non-inbred mice that a combined action of chlorinated hydrocarbons (ethane dichloride and trichloroethylene) in a dose of 0.5 LD₅₀ intragastric and of heated air leads to the summation of their immunosuppressive effects. An acute action of chlorinated hydrocarbons activates lipid peroxidation which intensifies under the impact of toxicants in high-heated air.

УДК 575.55.044

Л.П.Сычева, С.М.Шереметьева, Е.К.Кривцова, В.С.Журков,
Е.Н.Головач*, Е.Е.Полякова, О.О.Синицына**ОЦЕНКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЕТИЛЕНОВОГО ГОЛУБОГО И ПРОДУКТОВ ЕГО ФОТОДЕСТРУКЦИИ В ПОЛИОРГАННОМ МИКРОЯДЕРНОМ ТЕСТЕ НА КРЫСАХ***ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина РАМН, Москва*

Проведена оценка цитогенетической и цитотоксической активности метиленового голубого (0,25, 0,05, 0,01 мг/кг) и продуктов его фотодеструкции (0,05, 0,01 мг/кг) в полиорганном микроядерном тесте (костный мозг, эпителиальные клетки мочевого пузыря и толстой кишки) в хроническом эксперименте на крысах при внутрижелудочном воздействии. Установлено, что метиленовый голубой не обладает цитогенетической активностью в исследованных дозах. Пороговая доза цитотоксического действия — 0,05 мг/кг. Продукты фотодеструкции способствуют развитию мутагенных эффектов в эпителиоцитах толстой кишки в дозе 0,05 мг/кг; цитотоксическое действие в эпителиоцитах толстой кишки и мочевого пузыря проявляется в дозах 0,01 мг/кг и выше.

Ключевые слова: метиленовый голубой, фотосенсибилизатор, фотодеструкция, цитогенетическая и цитотоксическая активность, полиорганный микроядерный тест.

Введение. Метиленовый голубой является фотодинамически активным красителем и может быть использован в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамического обеззараживания воды. В основе метода лежит использование тропности к клеткам микроорганизмов красителей, возбуждение которых в присутствии кислорода приводит к образованию синглетного кислорода и кислородсодержащих радикалов, окисляющих биомолекулы и вызывающих гибель микробной клетки по месту локализации вещества [9]. Для определения возможности применения препарата в практике водоподготовки необходимо изучение его токсичности и опасности.

Особое внимание требует оценка мутагенной активности метиленового голубого. В тестах на микроорганизмах показана способность красителя индуцировать мутации [4, 8]. В культурах клеток млекопитающих препарат повышал частоту генных мутаций и сестринских хроматидных обменов [6, 7] и не влиял на уровень аберраций хромосом [3]. В ряде работ выявлена мутагенная активность продуктов трансформации метиленового голубого после облучения его видимым светом [1, 5]. При этом отмечено различие механизмов мутагенного действия метиленового голубого и продуктов его фотодеструкции. Если метиленовый голубой действовал как интеркалирующий агент, вызывая мутации на штаммах *S. typhimurium* TA 97 и TA 98, то нару-

шения ДНК при обработке красителем после облучения видимым светом были сходны с таковыми для синглетного кислорода, мутагенный эффект был выявлен на штамме TA 100 [2].

Эти данные указывают на необходимость оценки мутагенной активности метиленового голубого и продуктов его фотоактивации в экспериментах на млекопитающих. В качестве тест-системы выбран полиорганный микроядерный тест на крысах, позволяющий оценить цитогенетическую активность вещества в клетках костного мозга, эпителиальных клетках мочевого пузыря и толстой кишки [14]. Цель работы — оценка цитогенетической активности метиленового голубого и продуктов его фотодеструкции в полиорганном микроядерном тесте в хроническом эксперименте на крысах при внутрижелудочном воздействии.

Материал и методы исследований. Эксперименты проведены на самцах белых неинбредных крыс массой 260–310 г. Животных содержали при 12-часовом световом режиме в условиях свободного доступа к воде и корму. В каждой экспериментальной группе было по 6 особей.

Метиленовый голубой синтезирован в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»¹. Исследовалась цитогенетическая активность самого вещества и продуктов его фотодеструкции. Растворы красителя готовили на питьевой воде «Ваше здоровье», не подвергавшейся хлорированию и не содержащей

¹ Авторы благодарят с.н.с., к.х.н. В.И.Алексееву и с.н.с., к.х.н. Л.Е.Маринину за предоставление профлаваина ацетата

* Фрагмент диссертационной работы

ГСС. Для получения продуктов фотодеструкции растворы красителя помещали в термостатированный сосуд объемом 0,5 л и облучали видимым светом с помощью галогеновой лампы. В процессе облучения через раствор непрерывно барботировали воздух с целью перемешивания и насыщения кислородом, расходующимся в процессах фотоокисления. Длительность облучения составила 3 ч. При этом доля распавшегося красителя составила 20%.

Растворы красителя в дозах 0,01, 0,05 и 0,25 мг/кг, а также облученного красителя в дозах 0,01 и 0,05 мг/кг вводили 5 дней в неделю внутривентрикулярно в течение 120 суток. Препараты клеток костного мозга, эпителиальных клеток толстой кишки и мочевого пузыря готовили в соответствии с методическими рекомендациями [10].

Цитогенетический анализ проводили на зашифрованных препаратах. В препаратах костного мозга подсчитывали число полихроматофильных эритроцитов с микроядрами на 1000 полихроматофильных эритроцитов и долю полихроматофильных эритроцитов на 200 эритроцитов. В препаратах мочевого пузыря учитывали на 1000 эпителиальных клеток число клеток с микроядрами, протрузиями, атипичной формой ядра, перетяжкой ядра и двуядерных клеток. В препаратах толстой кишки учитывали на 1000 эпителиальных клеток число клеток с микроядрами, протрузиями и кариопикнозом.

Критерии учета аномалий ядра приведены в методических рекомендациях [11]. К показателям цитогенетического эффекта относятся клетки с микроядрами и с протрузиями. Микроядра – небольшие округлые с четким контуром ДНК-содержащие образования в цитоплазме клеток за пределами ядра. Протрузии – шаровидные, нитевидные или иной формы ядер-

ные структуры в цитоплазме, четко ограниченные от ядра и соединяющиеся с ним перемычкой. К цитотоксическим показателям относятся: двуядерные клетки; клетки с перетяжкой ядра (клетки с борозкой, перетягивающей ядро); клетки с ядром атипичной формы, клетки с кариопикнозом.

Сравнение долей клеток с нарушениями в опытной группе с контрольной проводили по Манн-Уитни. Для оценки связи доли клеток с нарушениями и дозы красителя использовали Ранговый коэффициент корреляции Спирмена (R).

Результаты и обсуждение. Костный мозг. Средняя доля полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в опытных группах варьировала от 0,67 до 3,83‰ и не отличалась от таковой в контрольной группе $2,16 \pm 0,87\%$. Не выявлено влияния красителя при всех испытанных дозах и вариантах на долю полихроматофильных эритроцитов от общего числа эритроцитов.

Толстая кишка. Результаты анализа представлены в табл. 1. В группах животных, получавших раствор необлученного метиленового голубого, средняя доля клеток с микроядрами, с протрузиями и с кариопикнозом не отличалась от таковых в контрольной группе.

В группах животных, получавших облученный светом краситель, доля клеток с микроядрами не отличалась от контроля. В то же время выявлено статистически значимое увеличение доли клеток с протрузиями в группе животных, получавших облученный краситель в максимальной дозе, как при сравнении с контролем, так и при сравнении с группой животных, получавших соответствующую дозу необлученного препарата. Доля клеток с кариопикнозом при действии исследованных доз облученного красителя была статистически значимо выше, по сравнению с контрольной группой и с группами жи-

Таблица 1

Цитогенетические и кариологические показатели в эпителиальных клетках толстой кишки крыс при действии метиленового голубого

Доза красителя, мг/кг	Средняя доля клеток с нарушениями, ‰		
	микроядра	протрузии	кариопикноз
Контроль	0,17±0,17	3,17±1,08	16,00±5,28
<i>Метиленовый голубой</i>			
0,01	0,33±0,21	2,83±0,40	16,67±11,71
0,05	0,17±0,17	4,17±1,05	7,33±2,82
0,25	0,17±0,17	4,00±1,77	20,17±6,76
<i>Метиленовый голубой после облучения видимым светом</i>			
0,01	0,00	6,50±1,65	41,33±5,26*
0,05	0,50±0,34	10,00±1,41*	40,00±8,27*

Примечание. В табл. 1 и 2 * – значимое различие с контролем по Манн-Уитни, $p < 0,05$

**Цитогенетические и кариологические показатели в клетках мочевого пузыря крыс
при действии метиленового голубого**

Доза красителя, мг/кг	Средняя доля клеток с нарушениями, %				
	микроядра	протрузии	двухядерные клетки	перетяжка ядра	атипичная форма ядра
Контроль	2,17±1,22	7,67±2,52	14,17±2,60	40,67±8,78	38,00±12,55
<i>Метиленовый голубой</i>					
0,01	2,67±0,76	8,50±1,38	10,33±2,80	33,83±4,66	35,83±9,38
0,05	3,50±0,76	11,83±2,65	5,17±1,58*	26,83±4,47	49,83±11,49
0,25	3,00±0,63	10,67±1,08	5,83±1,85*	29,00±8,73	47,83±16,15
<i>Метиленовый голубой после облучения видимым светом</i>					
0,01	2,17±0,48	7,67±1,38	6,83±1,49*	23,50±6,35	43,83±6,04
0,05	1,50±0,43	9,83±2,49	6,33±2,02*	21,83±7,29	52,33±11,26

вотных, получавших соответствующие дозы необлученного препарата.

Таким образом, необлученный краситель во всех изученных дозах не выявил значимого изменения цитогенетических и цитотоксических показателей в клетках толстой кишки. Облученный краситель индуцировал в эпителии толстой кишки значимое повышение доли клеток с протрузиями (цитогенетический эффект) при дозе 0,05 мг/кг, и доли клеток с кариопикнозом (цитотоксический эффект) при минимальной исследованной дозе 0,01 мг/кг.

Мочевой пузырь. Результаты анализа эпителиальных клеток мочевого пузыря крыс представлены в табл. 2. Доля клеток с микроядрами и с протрузиями в мочевом пузыре крыс при действии всех доз необлученного красителя и продуктов его фотодеструкции не отличалась статистически значимо от контроля.

Показано снижение доли двухядерных клеток с увеличением дозы метиленового голубого как при действии красителя без облучения ($R = -0,573$, $df = 22$, $p < 0,01$), так и после облучения видимым светом ($R = -0,555$, $df = 16$, $p < 0,05$). Пороговая доза необлученного красителя – 0,05 мг/кг, облученного красителя – 0,01 мг/кг. Сходные тенденции отмечены и для доли клеток с перетяжкой ядра. Однако из-за большого разброса показателя в группах не выявлено как достоверно значимых отличий показателя от контроля, так и значимой обратной связи доли клеток с перетяжкой ядра у крыс и дозой красителя. Хотя наблюдается увеличение средней доли клеток с атипичной формой ядра с возрастанием дозы необлученного и облученного красителя, из-за большого разброса показателя между животными в группах статистически значимых отличий от контроля не выявлено.

В хроническом эксперименте при пероральном введении крысам необлученный метилено-

вый голубой в дозах 0,01, 0,05 и 0,25 мг/кг не индуцировал цитогенетических нарушений в клетках костного мозга, эпителиальных клетках толстой кишки и мочевого пузыря. Максимальная доза красителя была примерно в 4–20 раз ниже терапевтической дозы препарата для человека в день [12]. Эти дозы не влияли на долю полихроматофильных эритроцитов в костном мозге, уровень клеток с атипичной формой ядра и с перетяжкой ядра в мочевом пузыре, клеток с кариопикнозом в толстой кишке. Отмечено снижение в 2,5 раза по сравнению с контролем доли двухядерных клеток в мочевом пузыре у крыс, получавших краситель в дозах 0,05 и 0,25 мг/кг. В настоящее время критериальная значимость снижения доли двухядерных клеток в эпителии мочевого пузыря не ясна. Можно заключить, что необлученный краситель не индуцирует цитогенетических аномалий и значимых кариотоксических нарушений в клетках изученных органов крыс при хроническом внутрижелудочном введении.

После фотоактивации метиленовый голубой в дозах 0,01 и 0,05 мг/кг не влиял на уровень изученных показателей в костном мозге крыс. В мочевом пузыре, также как и при действии необлученного красителя, отмечено значимое снижение только доли двухядерных клеток по сравнению с контролем. Достоверный эффект выявлен в группе крыс, получавших минимальную дозу красителя 0,01 мг/кг. В эпителии толстого кишечника существенно возростала доля клеток с протрузиями (минимально-действующая доза 0,05 мг/кг) и доля клеток с кариопикнозом (эффективны все испытанные дозы).

Заключение. Фотоактивация метиленового голубого приводит к образованию соединений, обладающих цитогенетической (индукция протрузий) и цитотоксической (индукция кариопикноза) активностью в клетках толстой кишки

крыс. Эти же соединения снижают уровень двуядерных клеток в мочевом пузыре в дозе, которая в 5 раз ниже действующей дозы необлученного красителя. Поскольку при облучении разрушалось 20% дозы метиленового голубого, биологическая активность продуктов фотодеструкции даже минимально изученной дозы красителя (0,01 мг/кг) представляется значимой.

Полученные результаты, наряду с данными по изучению цитогенетической активности химических соединений в полиорганном микроядерном тесте на млекопитающих [14], указывают на недостаточность при оценке мутагенного эффекта учета микроядер или аберраций хромосом только в клетках костного мозга млекопитающих. Внедрение полиорганного микроядерного теста позволит повысить эффективность выявления мутагенных соединений, оценить органоспецифичность их действия, более надежно выявлять минимально-эффективную дозу мутагенов, оценить цитотоксичность изученных соединений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы.

Список литературы

1. Chung K.-T., Fulk G.F., Andrews A.W. Mutagenicity testing of some commonly used dyes // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1981. — V. 42. — № 4. — P. 641-648.
2. Epe B., Hegler J., Wild D. Identification of ultimate DNA damaging oxygen species // *Environ. Health Perspect.*, 1990. — V. 88. — P. 111-115.
3. Ishidate Jr M., Harnois M.C., Sofuni T. A comparative analysis of data on the clastogenicity of 951 chemical substances tested in mammalian cell cultures // *Mutation Research*, 1988. — V. 195 — P. 151-213.
4. Kier L.D., Brusick D.J., Auletta A.E. et al. The *Salmonella typhimurium*/mammalian microsomal assay: A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Programe // *Mutation Research*, 1986. — V. 168. — P. 69-240.
5. Smijs T.G., Nivard M.J., Schuitmarker H.J. Development of a test system for mutagenicity of photosensitizers using *Drosophila melanogaster* // *Photochem. Photobiol.*, 2004. — V. 79. — № 4. — P. 332-338.
6. Tucker J.D., Auletta A.E., Cimino M.S. et al. Sister-chromatid exchange: Second report of the Gene-Tox Programe // *Mutation Research*, 1993. — V. 297. — № 2. — P. 101-186.
7. Wagner S.J., Cifone M.A., Murli Y. et al. Genotoxicity assessment of methylene blue in plasma: Implications for virus inactivation // *Transfusion*, 1995. — V. 35. — № 5. — P. 407-413.
8. Webb R.B., Hass B.S. Biological effects of dyes on bacteria. IV. Mutation induction by acridine orange and methylene blue in the dark with the special reference to *Esherichia coli* WP6 (polA1) // *Mutation Research*, 1984. — V. 137. — № 1. — P. 1-6.
9. Кузнецова Н.А., Каляя О.Л. Фотокаталитическая генерация активных форм кислорода в биологических средах в методе фотодинамической терапии // *Российский химический журнал*, 1998. — № 5. — С. 36-49.
10. Оценка мутагенной активности факторов окружающей среды в клетках разных органов млекопитающих микроядерным методом. Методические рекомендации. — М., 2001. — 22 с.
11. Оценка цитологического и цитогенетического статуса слизистых оболочек полости носа и рта у человека. Методические рекомендации. — М., 2005. — 37 с.
12. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Часть II. — 12-ое изд. перераб. и доп. — М.: Медицина, 1993. — С. 473-474.
13. Сычева Л.П. Научное обоснование и разработка системы оценки мутагенного эффекта химических загрязнений окружающей среды у млекопитающих *in vivo* с учетом органной специфичности // Автореферат дисс... д-ра мед. наук. — М., 2002. — 46 с.
14. Сычева Л.П., Журков В.С., Рахманин Ю.А. Новый подход к диагностике мутагенных и канцерогенных факторов окружающей среды // *Гигиена и санитария*, 2003. — № 6. — С. 87-91.

Материал поступил в редакцию 24.04.06.

L.P.Sychyova, S.M.Sheremetyeva, Ye.K.Krivtsova, V.S.Zhurkov, Ye.N.Golovach, Ye.Ye.Polyakova,
O.O.Sinitsina

ASSESSMENT OF CYTOGENETIC ACTIVITY OF METHYLENE BLUE AND PRODUCTS OF ITS PHOTO DECOMPOSITION IN A POLYORGANIC MICRONUCLEAR ASSAY ON RATS

State-owned Research Institute of Human Ecology and Environmental Health, Russian Academy of Medical Sciences

It was conducted an assessment of cytogenetic and cytotoxic activity of methylene blue (0.25; 0.05; 0.01 mg/kg and products of its photo decomposition (0.05; 0.01 mg/kg) in polyorganic micronuclear assays (bone marrow, epithelial cells in urinary bladder and large intestine) in a chronic experiment on rats at intragastric exposure. It was found out that methylene blue has no cytogenetic activity at doses investigated. A threshold dose to cytotoxic action is 0.05 mg/kg. Photo decomposition products induce the development of mutagenous effects in epitheliocytes of large intestine at a dose of 0.05 mg/kg; a cytotoxic effect in epitheliocytes of large intestine and urinary bladder appears at doses of 0.01 mg/kg and higher.

УДК 504.05/06

А.М.Пономаренко^{1*}, Н.Ю.Степанова², В.З.Латыпова², М.А.Перевозников¹ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РТУТИ В ТКАНЯХ И ОРГАНАХ РЫБ
В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ¹ФГНУ «Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного
рыбного хозяйства», С.-Петербург²Казанский государственный университет

Дается математическое описание процесса накопления ртути в тканях и органах карпа (*Cyprinus carpio L.*) в модельном эксперименте при концентрации нитрата ртути 0,01 и 0,1 мг/л. Процесс накопления ртути в мышцах и костях подчиняется экспоненциальной, а в жабрах и печени — логарифмической зависимости, что отражает барьерную функцию последних для организма.

Ключевые слова: накопление ртути, ткани и органы рыб.

Введение. По объему загрязнения и по потенциальной биологической и экологической эффективности наиболее существенное влияние на водные экосистемы оказывают тяжелые металлы, поступление многих из них из антропогенных источников по объему соизмеримо с источниками естественными, а в некоторых случаях — и превосходит их. В отличие от загрязняющих органических веществ металлы практически не выводятся из водной экосистемы, так как они не трансформируются при воздействии природных факторов, а лишь перераспределяются между водной, твердой фазами и биотой [14]. Что касается ртути, то ее поступление в водную среду из антропогенных источников превышает такое из естественных более чем в 2 раза. Мигрируя по пищевым цепям, она накапливается в отдельных компонентах водной экосистемы, о чем свидетельствуют многочисленные литературные данные [1-3, 6-10, 15-17]. Предыдущими исследованиями показано [18], что даже при весьма низких концентрациях ртути в водной среде она имеет тенденцию накапливаться в биоте и в специальных искусственных серосодержащих сорбентах, используемых для целей мониторинга. Особую опасность ртуть представляет для рыб.

Целью данной работы было выявить закономерности распределения ртути по органам и тканям рыб в условиях лабораторного моделирования, исключая влияние трофических и популяционных особенностей, природно-климатических и возрастных факторов.

Материалы и методы исследований. Исследование проводили на годовиках карпа (*Cyprinus carpio L.*) массой $9,4 \pm 1,5$ г и длиной $10,2 + 2,4$ см.

Рыб предварительно адаптировали в лабораторных условиях в течение 10–14 дней [13]. В лаборатории моделировали условия, характерные для зон интенсивного поступления ртутного загрязнения в водоем. В аквариумы объемом 80 л помещали рыб из расчета 2–3 г рыб на литр воды [4, 5, 11, 12]. В отстоянную водопроводную воду с низкой жесткостью (0,76 мг-экв/л), предварительно пропущенную через фильтр «Роса», добавляли раствор нитрата ртути для постоянного поддержания концентрации 0,01 мг/л в первом эксперименте и 0,1 мг/л — во втором, что соответствует 100 и 1000 ПДК. Один раз в сутки проводили замену воды с возобновлением исходной концентрации ртути. Время экспозиции составляло 40 суток, в течение всего времени проведения эксперимента в аквариумах контролировали величину рН (7,0–7,5), содержание растворенного кислорода (5,84–9,24 мг O₂/л), температуру воды (17,7–19,2°C).

Ежедневно в течение всего опыта рыб кормили искусственным гранулированным комбикормом К-16-82 из расчета суточного рациона 5% от массы рыбы. Корм вносили за 2 ч до смены воды [4, 5]. Содержание ртути в используемом корме не превышало нормативных величин. Все серии опытов повторяли дважды.

Через 2, 4, 10, 15, 20, 25, 30 и 40 суток из аквариума отлавливали соответствующее количество особей, промывали их дистиллированной водой для удаления слизи с поверхности, отбирали для анализа органы и ткани: печень, жабры, мышцы, кости. Образцы взвешивали, гомогенизировали. Проводили пробоподготовку для количественного определения ртути методом холодного пара атомно-абсорбционной спектроскопии на приборе Юлия-2.

* Фрагмент диссертационной работы

Навеску исследуемого образца массой 0,2–3,0 г подвергали мокрому озонению, добавляя к образцу 15–20 см³ смеси концентрированных азотной и серной кислот (1:1) и нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 60–90 мин. Горячий деструктат фильтровали, охлаждали, для полного окисления в деструктат добавляли 15 см³ 5% раствора перманганата калия. Избыток перманганата калия удаляли добавлением 5–7 см³ раствора солянокислого гидроксиламина до обесцвечивания раствора.

Статистическую работу результатов проводили с использованием программы Statistica 6,0.

Результаты и обсуждение. Результаты содержания ртути в тканях и органах карпа при экспонировании в лабораторных условиях при различном содержании ртути в воде обобщены в табл. С первых дней эксперимента наблюдалось накопление ртути в жабрах и печени, а через 10 дней содержание ртути во всех тканях и органах было значительно выше, чем в воде.

Среднее содержание ртути в тканях и органах карпа в обоих вариантах эксперимента можно расположить по мере убывания в следующий ряд: жабры > печень > мышцы > костная ткань.

В данном ряду на первом месте по содержанию ртути стоят жабры. В литературе [8-10, 16, 17] отмечается большее содержание ртути в печени по сравнению с другими органами в различных видах рыб, обитающих в природных условиях.

Особое положение жабр в нашем случае объясняется поддержанием постоянной концентрации ртути в воде в условиях лабораторного моделирования. Проницаемость жаберного эпителия определяется формами нахождения металла в воде, и наибольшая проницаемость характерна для ионных форм. Соединения ртути характеризуются весьма высоким сродством к твердой фазе, поэтому легко адсорбируются взвешенными частицами, теряют способность проникновения через мембраны по типу ионного обмена и накапливаются жабрами по сорбционному меха-

Таблица

Содержание общих форм ртути (мг/кг) в органах и тканях карпа в модельном эксперименте

Время экспозиции, сут.	Среднее содержание (M±Δ)			
	печень	жабры	мышцы	костная ткань
<i>Содержание в воде ртути, 0,01 мг/л</i>				
1	0,023±0,003	0,128±0,016	0,007±0,002	0,0016±0,0002
4	0,237±0,023	0,472±0,092	0,008±0,002	0,002±0,0002
10	1,187±0,140	5,379±0,222	0,012±0,002	0,0032±0,0004
15	1,369±0,105	6,490±0,123	0,015±0,001	0,0060±0,0004
20	2,130±0,189	6,529±0,155	0,030±0,003	0,0070±0,0004
25	4,121±0,101	8,157±0,243	0,034±0,003	0,0084±0,0004
30	3,983±0,092	7,398±0,259	0,037±0,004	0,0130±0,0006
40	4,998±0,417	7,986±0,187	0,041±0,002	0,0200±0,0010
<i>Содержание в воде ртути, 0,1 мг/л</i>				
1	0,078±0,005	1,954±0,100	0,032±0,004	0,0060±0,0010
4	3,346±0,281	6,170±0,816	0,082±0,020	0,0180±0,0005
10	18,050±1,778	23,640±1,656	0,138±0,017	0,042±0,002
15	24,530±0,257	26,110±2,775	0,218±0,019	0,058±0,003
20	33,470±3,614	29,480±1,641	0,302±0,020	0,080±0,003
25	34,540±2,824	28,820±1,041	0,344±0,032	0,109±0,003
30	32,280±3,200	29,620±1,740	0,722±0,004	0,128±0,0030
40	32,760±2,820	36,400±2,557	0,872±0,042	0,615±0,092

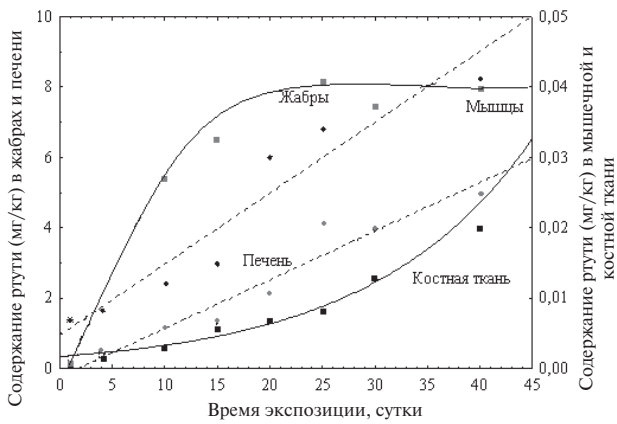


Рис. 1. Зависимость содержания ртути в тканях и органах карпа (*Syrpinus carpio* L.) от времени экспонирования в условиях лабораторного моделирования при концентрации ионов ртути 0,01 мг/л

Жабры: $y = 5,74 \cdot \lg x - 0,82$; $R = 0,86$; $p < 0,05$;

Печень: $y = 0,14 \cdot x - 0,25$; $R = 0,97$; $p < 0,05$;

Мышцы: $y = 0,005 + 0,001 \cdot x$; $R = 0,96$; $p < 0,05$;

Костная ткань: $y = 0,002 \cdot \exp(0,066 \cdot x)$; $R = 0,97$; $p < 0,05$.

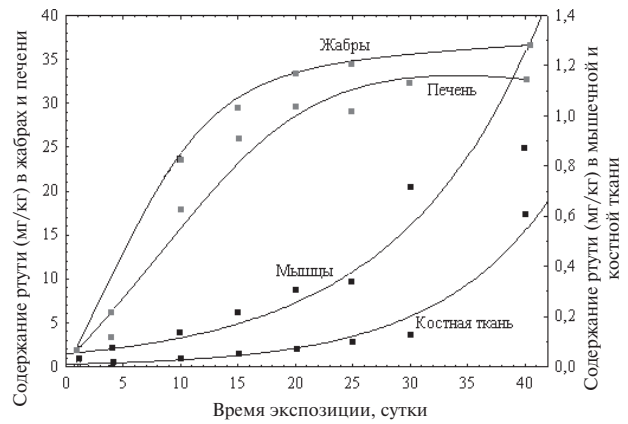


Рис. 2. Зависимость содержания ртути в костной ткани карпа (*Syrpinus carpio* L.) от времени экспонирования в условиях лабораторного моделирования при концентрации ионов ртути 0,1 мг/л

Жабры: $y = 22,07 \cdot \lg x - 0,83$; $R = 0,89$; $p < 0,05$;

Печень: $y = 24,83 \cdot \lg x - 4,18$; $R = 0,87$; $p < 0,05$;

Мышцы: $y = 0,05 \cdot \exp(0,08 \cdot x)$; $R = 0,96$; $p < 0,05$;

Костная ткань: $y = 0,01 \cdot \exp(0,10 \cdot x)$; $R = 0,81$; $p < 0,05$.

низму (рис. 1, 2).

Полученный логарифмический вид зависимости в обоих случаях (рис. 1, 2) свидетельствует об общем механизме накопления ртути в жабрах — сорбция металла, главным образом, в виде неорганических соединений. Отсутствие эффекта насыщения (выхода на плато), по-видимому, связано с большой площадью поверхности жабр.

Однако ртуть присутствует в водной среде также и в органической форме в результате протекания процессов метилирования с образованием метил- и диметилртути с участием микрофлоры. Считают, что свыше 90% ртути, содержащейся в рыбе, включено в метилртуть [14]. Проникая через жаберные мембраны, органическая ртуть легко достигает внутренних органов. Опасность для гидробионтов этих форм ртути состоит в том, что во внутренних органах они легко вступают в соединения с белком, солями крови и тканей. Токсическое действие ртути и ее соединений обусловлено, главным образом, блокированием функциональных (преимущественно сульфгидрильных) групп тканевых белков, в результате чего тиогруппы теряют свои реакционные свойства.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что при концентрации ртути в растворе 0,01 мг/л происходит закономерное увеличение ее содержание в мышцах и печени, выражающееся линейной зависимостью (рис. 1).

При увеличении концентрации ртути в растворе накопление ее в печени носит логарифмический характер, т. е. наблюдается резкий рост содержания ртути в печени, т. к. выделение остатков поглощенных организмом и пре-

вращенных в процессе детоксикации метилорганических соединений происходит через печень (рис. 2). На уровне 32 мг/кг (20–25 суток) наблюдается «насыщение» ртутью печени, после чего возможна интоксикация и гибель организма.

В мышцах также наблюдается увеличение содержания общей ртути, но вид этой зависимости несколько иной (экспоненциальный) в отличие от предыдущего случая (рис. 2). Накопление общей ртути также происходит, но в первое время этот процесс носит более замедленный характер за счет активно действующих механизмов выведения токсиканта. И только по истечении 5 суток — время максимального насыщения печени ртутью — происходит резкое ее накопление в мышцах. Подобный экспоненциальный механизм накопления общей ртути в костной ткани отмечен в обоих вариантах эксперимента (рис. 1, 2).

Костная ткань в силу своих особенностей не очень активно вовлекается в процесс миграции и трансформации ртути в ее неорганической и органической формах. Однако по мере ослабления процессов выведения ртути из организма здесь также прослеживается тенденция к резкому росту содержания ртути после 25 суток экспонирования.

Закключение. Проведенный эксперимент с содержанием годовиков карпа в среде, содержащей неорганическую ртуть в концентрациях 0,01 и 0,1 мг/л, показал, что особое положение, которые заняли жабры среди других органов и тканей по абсолютному содержанию ртути объясняется сорбционным механизмом накопления и каса-

ется, по-видимому, ее неорганических форм, содержащихся в растворе в избытке.

Процесс увеличения содержания ртути в печени связан с ее детоксицирующей функцией в организме и имеет логарифмический характер, после достижения предела «насыщения» наблюдается резкое увеличение (экспоненциальная зависимость) содержания ртути в мышцах и костной ткани.

Список литературы

1. Голованова И.Л., Кузьмина В.В., Комов В.Т. и др. Влияние ртути на скорость и кинетические характеристики гидролиза углеводов в кишечнике окуня // *Современные проблемы водной токсикологии*. – Борок, 2002. – С. 33.
2. Гремячих В.А., Гребенюк Л.П., Степанова И.К. Накопление ртути и ее влияние на личинок комаров *Chironomus plumosus* // *Современные проблемы водной токсикологии*. – Борок, 2002. – С. 10.
3. Комов В.Т., Лапкина Л.Н., Степанова И.К. Экспериментальное доказательство реальной опасности метилртути, накопленной в рыбе, для гидробионтов // *Современные проблемы водной токсикологии*. – Борок, 2002. – С. 15.
4. Крылов О.Н. К методике гематологического обследования рыб при отравлениях. // *Известия ГОСНИОРХ. Л.*, 1974. – Т.98. – С.95–99.
5. Крылов О.Н. Методические указания по гематологическому обследованию рыб в водной токсикологии. – Л.: Изд-во ГосНИОРХ, 1974. – 40 с.
6. Лапкина Л.Н., Комов В.Т., Степанова И.К. Влияние алиментарно поступающей ртути на результативность реакций у хищника и жертвы // *Современные проблемы водной токсикологии*. Борок, 2002. – С.48.
7. Латыпова В.З., Селивановская С.Ю., Степанова Н.Ю. и др. Региональное нормирование антропогенных нагрузок на природные среды. – Казань: Изд-во «Фэн», 2002. – 345 с.
8. Леонова Г.А., Аношин Г.Н., Кузнецова А.И. и др. Биогеохимическая индикация загрязнения тяжелыми металлами некоторых водохранилищ Си-

бири (Иркутское, Братское, Новосибирское) // *Материалы международного симпозиума «Геохимия ландшафтов, палеоэкология человека и этногенез»*. – Улан-Уде, 1999. – С. 336–338.

9. Леонова Г.А., Бычинский В.А. Гидробионты Братского водохранилища как объекты мониторинга тяжелых металлов // *Вод. ресурсы*, 1998. – Т. 25. – № 5. – С. 603–610.

10. Леонова Г.А., Щербов Б.Л., Страховенко В.Д. и др. Сравнительная оценка экологического состояния водоемов нефтедобывающих районов (север Западной Сибири) и фоновых территорий (Алтайский край) // *Экориск*. – Томск, 2000. – С. 234–238.

11. Лесников Л.А. Разработка нормативов допустимого содержания вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов // *Известия ГосНИОРХ*. – Л., 1979. – Т. 98. – С. 3–41.

12. Лукьяненко В.И. Методы исследований токсичности на рыбах. – М.: Агропромиздат, 1985. – 117 с.

13. Подоба З.П. К вопросу о методике проведения токсикологических опытов с рыбами и установления ПДК // *Симпозиум по водной токсикологии*. – Л., 1969. – С. 93–94.

14. Филленко О.Ф. Водная токсикология. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. – 154 с.

15. Bargagli R. Effects of abandoned mercury mines on terrestrial and aquatic ecosystems // *Contaminated Soils. 3rd International Conference on the Biogeochemistry of trace elements*, 1995. – P. 255–265.

16. Bargagli R., Corsolini S., Fossi M.C. et al. Antarctic fish *Trematomus Bernacchii* as biomonitor of environmental contaminants at Terra Nova Bay Station (Ross Sea) // *Mem. Natl Inst. Polar Res., Spec. Issue*, 1998. – V. 52. – P. 220–229.

17. Bargagli R., Monaci F., Sanchez-Hernandez J.C. et al. Biomagnification of mercury in an Antarctic marine coastal food web // *Mar Ecol/ Prog/ Ser.*, 1998. – V. 169. – P. 65–76.

Материал поступил в редакцию 27.06.06.

A.M.Ponomarenko¹, N.Yu.Stepanova², V.Z.Latypova², M.A.Perevoznikov¹

SPECIFIC CHARACTER OF THE MERCURY DISTRIBUTION IN FISH TISSUES AND ORGANS STUDIED IN A MODEL EXPERIMENT

¹State Research Institute of Lake and River Fishery, St.Petersburg

²Kazan State University

The process of accumulation of mercury in tissues and organs of carps (*Cyprinus carpio* L.) is mathematically described in a model experiment at a concentration of mercury nitrate of 0.01 and 0.1 mg/l. The process of accumulation of mercury in muscles and bones obeys exponential dependence and logarithmic dependence in gills and liver which shows a barrier function of the latter for the organism.

УДК 615.917'558.1.07

Ф.А.Цимбал, М.В.Цимбал, С.Н.Субботина, Н.В.Гончаров, Л.М.Глашкина

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОРОГА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЕТОДА ПУПИЛЛОМЕТРИИ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

*ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства, С.-Петербург, Россия*

В опытах на лабораторных животных при различных способах введения ФОС исследована диагностическая и прогностическая значимость метода пупиллометрии. При инстилляции различных ФОС в конъюнктивальный мешок кроликов показана высокая степень чувствительности метода. Активность холинэстеразы при попадании в организм равного количества токсиканта не изменяется.

Ключевые слова: фосфорорганические отравляющие вещества, диизопропилфторфосфат, нейротоксиканты, фосфакол, армин, пупиллометр, пупиллограмма, пупиллометрический комплекс, миоз.

Введение. Фосфорорганические отравляющие вещества (ФОВ) являются представителями большой группы фосфорорганических соединений (ФОС), которые получили широкое применение в различных областях народного хозяйства.

Известно, что к группе отравляющих веществ нервно-паралитического действия относятся высокотоксичные органические соединения из класса эфиров кислот фосфора. Основные представители ФОВ – зарин, зоман, V-газы, входящие в арсенал химического оружия как за рубежом, так и в Российской армии, подлежат уничтожению.

Зрачок является наиболее удобным и доступным индикатором для исследований функционального состояния центральной и периферической нервной систем, включая функцию вегетативной нервной системы, т. к. в иннервации регулирующего мышечного аппарата зрачка принимает участие оба ее отдела, симпатический и парасимпатический. Воздействие токсических веществ на кору, гипоталамус, ствол мозга, периферические, симпатические и парасимпатические волокна приводит к появлению самых различных нарушений в состоянии зрачков [3, 4].

Метод пупиллометрии (ППМ) позволяет по реакции зрачков на световой стимул оценить реактивность и состояние цереброспинальных вегетативных центров, отражающих состояние нервной системы и некоторых внутренних органов при воздействии на организм ряда высокотоксичных веществ.

Принцип метода пупиллометрии состоит в регистрации зрачковой реакции, проявляющейся в виде кратковременного сужения зрачка и возврата его к исходному состоянию при воздействии световой вспышки, а также анали-

зе пупиллографической кривой (пупиллограммы), которая отражает зависимость изменения диаметра зрачка от времени, в течение которого производится регистрация (как правило, 3 секунды).

Оценка параметров зрачковой реакции, обладающих достаточным постоянством в норме, становится весьма актуальной при воздействии на организм токсических веществ, особенно обладающих нейротоксическим действием. При воздействии нейротоксикантов происходит смещение баланса процессов торможения и возбуждения как внутри системы-«мишени» (холинэргической – в случае воздействия ФОС), так и в других тесно взаимодействующих с ней нейромедиаторных системах мозга, что в первую очередь будет сказываться на состоянии зрачка [5]. Известно, что при ингаляционном поражении у людей через несколько минут после пребывания в атмосфере, содержащей даже ничтожные концентрации паров ФОВ, развивается один из наиболее типичных и специфических мускариноподобных симптомов отравления этими ядами – миоз (сужение зрачка), причем миоз может быть неодинаковым (анизокория) и зависеть от количества яда, попавшего в организм. Такого же рода изменения характерны и при воздействии ФОС на организм человека [2, 5].

Таким образом, зрачок является одним из первых чувствительных индикаторов нарушения функционального состояния ЦНС и ВНС, вызванного нейротоксикантами.

Однако вопрос о чувствительности метода пупиллометрии представляется недостаточно изученным.

Целью работы является определение порога чувствительности метода пупиллометрии в токсикологическом эксперименте для оценки степени интоксикации по изменению параметров

зрачковой реакции при различных путях поступления токсиканта.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования были выбраны кролики самцы породы Шиншилла в возрасте от 4-х месяцев до 1,5 лет массой от 2,5 до 4,5 кг.

Использование кроликов в токсикологическом эксперименте для исследования функции зрачка обусловлено тем, что глаз кролика по строению, размерам и форме наиболее похож на глаз человека [6]. Имеющиеся различия в характере зрачковой реакции (слабая реакция на импульсную засветку) были нивелированы с помощью специально разработанной методики подачи светового стимула.

В качестве необратимых ингибиторов холинэстеразы использовали фосфакол, ДФФ и армин. Маточные раствор токсикантов в разведении 1:100 приготавливали на диметилсульфоксиде (ДМСО). Затем из маточных растворов в две стадии готовили рабочие растворы в разведениях от 1:10000 до 1:1000000. При приготовлении рабочих растворов из маточного раствора для инстилляции в конъюнктивальный мешок в качестве растворителя использовали дистиллированную воду. Инстилляцию производили с помощью микропипетки в объеме двух капель по 30 мкл. В табл. 1 приведено расчетное количество токсикантов, содержащихся в указанном объеме.

Для регистрации зрачковых реакций лабораторных животных, в частности кроликов, в эксперименте использовали автоматизированный монокулярный пупиллометрический комплекс для лабораторных животных (АБПМК-Ж), разработанный в НИИ ГПЭЧ для проведения исследований по зрачковой реакции на световой стимул воздействия различных ксенобиотиков (в том числе БОВ). Регистрацию пупиллограмм проводили в соответствии с руководством по эксплуатации АБПМК-Ж. Кролики были предварительно приучены к фиксации в ложемен-

те (станке, куда они помещались во время исследования) и находились в спокойном состоянии. Для статистической обработки данных использовали пакет программ STATISTICA 6.0. Были задействованы блоки «Описательная статистика», «Корреляционный анализ», «Регрессионный анализ», а также графические средства указанного пакета. Первичная информация (пупиллограммы) обрабатывали пакетом программ, разработанным и апробированным в НИИ ГПЭЧ.

Выявление воздействия, ввиду вариации только одного фактора – количества токсиканта, производили по следующему критерию: если при проведении токсикологического эксперимента наблюдалось достоверное изменение хотя бы одного из параметров пупиллометрии (то есть отклонение от групповых или индивидуальных норм более чем на 2σ), то это трактовалось как проявление воздействия токсиканта на зрачковую реакцию.

Для сопоставления чувствительности методов оценки степени интоксикации ФОС параллельно использовали метод Элмана, позволяющий определить активность холинэстеразы в сыворотке и эритроцитах.

Результаты и обсуждение. Поскольку в доступной литературе отсутствует информация относительно норм параметров зрачковой реакции для кроликов, то на этапе подготовки к токсикологическому эксперименту были определены указанные нормы. Объем выборки, на которой нарабатывали исходные данные для определения норм, составлял 96 кроликов разных половозрастных групп.

Нормы параметров зрачковой реакции для кроликов породы Шиншилла представлены в табл. 2, из которой видно, что вертикальный диаметр зрачка кролика в норме в возрасте от 4 до 6 месяцев соответствует 6,36 мм, а в возрасте с 7 до 24 месяцев – 7,03 мм. Значимых отличий

Таблица 1

Расчетное количество токсикантов, содержащихся в 60 мкл рабочих растворов при различных разведениях

Разведение	1:10000	1:33000	1:100000	1:330000	1:500000	1:1000000
Масса вещества, мг	$6 \cdot 10^{-3}$	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$1,8 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-5}$
Масса ДФФ, моль	$3,3 \cdot 10^{-8}$	$9,8 \cdot 10^{-9}$	$3,3 \cdot 10^{-9}$	$9,8 \cdot 10^{-10}$	$6,5 \cdot 10^{-10}$	$3,3 \cdot 10^{-10}$
Масса фосфакола, моль	$2,1 \cdot 10^{-8}$	$6,4 \cdot 10^{-9}$	$2,1 \cdot 10^{-9}$	$6,4 \cdot 10^{-10}$	$4,2 \cdot 10^{-10}$	$2,1 \cdot 10^{-10}$

Таблица 2

Нормы показателей пупиллометрии у кроликов породы Шиншилла

Возраст, мес.	Масса тела, г	Параметр пупиллометрии							
		Дн, мм	Дк, мм	Вс, мм/с	Вр, мм/с	Ас, мм	Тс, с	Тр, с	Тл, с
4–6	3300±100	6,36±0,13	5,98±0,12	0,89±0,13	0,13±0,05	0,61±0,09	0,68±0,02	1,81±0,02	0,51±0,01
7–24	4600±100	7,03±0,05	6,66±0,05	0,99±0,06	0,17±0,01	0,63±0,04	0,64±0,01	1,84±0,01	0,50±0,01

параметров зрачковой реакции в зависимости от указанного возраста не наблюдается.

Различий пупиллометрических показателей в зависимости от пола у кроликов не обнаружено.

В эксперименте были исследовано влияние токсикантов на зрачковую реакцию при введении растворов токсикантов подкожно (в области холки), внутривенно (в краевую вену уха) и при инстилляции в конъюнктиву.

При введении кроликам ДФФ подкожно в дозах 0,1 и 0,25 мг/кг эффекта миоза и клинической картины отравления не наблюдалось. Отмечалось снижение активности холинэстеразы плазмы крови на 25–30%, в эритроцитах на 15% через 45 мин после воздействия. При подкожном введении ДФФ в дозе 0,5 мг/кг отмечались незначительные изменения в сторону увеличения диаметра зрачка через 30 мин. Клиническая картина интоксикации характеризовалась умеренными непродолжительными фибрилляциями мышц спины. Активность холинэстеразы плазмы крови понижалась на 57%, в эритроцитах – на 70% через 45 мин после воздействия.

При внутривенном введении в дозе 0,08 мг/кг сужение зрачка было незначительным и составляло 19% от начального диаметра. Активность холинэстеразы плазмы крови практически не изменялась.

Наиболее значимые результаты по изменению зрачковой реакции кроликов на световой стимул были получены при инстилляции в конъюнктивальный мешок фосфакола в различных разведениях.

При разведении фосфакола 1:10000, т. е. при поступлении вещества в количестве $6 \cdot 10^{-3}$ мг миоз развивался через 7–8 мин, зрачок достигал точечного размера или смыкался в щель. Полное восстановление наступало лишь через 3-е суток.

При инстилляции раствора 1:33000 зрачок уменьшался на 50% в среднем через 24 мин по-

сле воздействия и полностью восстанавливался через сутки. При инстилляции раствора в разведении 1:100000 отмечалось уменьшение зрачка на 16% через 30 мин с полным восстановлением через сутки. В разведениях 1:330000 и 1:500000 достоверных изменений не наблюдалось.

Таким образом, фосфакол при подкожном и внутривенном введениях в указанных дозах не вызывает достоверного уменьшения диаметра зрачка, в то время как при местном воздействии в разведениях 1:33000 и 1:100000 фиксируется миоз. Следует отметить, что развитие миотического эффекта носило немонотонный характер, т. е. имело место уменьшение диаметра зрачка с последующим его увеличением и дальнейшим сужением до минимального размера. Диаметр зрачка не восстанавливался после засветки. Активность холинэстеразы при инстилляции фосфакола в конъюнктиву не изменялась.

На рис. представлена динамика изменения диаметра зрачка во времени при инстилляции фосфакола в конъюнктивальный мешок в различных разведениях (масса вещества, мг). Заштрихованной областью обозначены границы изменения диаметра зрачка в пределах допустимой нормы. Эта область представляет диапазон вариации начального диаметра зрачка, в пределах которого изменения указанного параметра следует считать фоном. «Выход» размера диаметра зрачка за пределы заштрихованной области является достоверным отклонением ($p < 0,05$). Из рисунка видно, что изменения начального диаметра зрачка при воздействии фосфакола в количестве $1,8 \cdot 10^{-4}$ мг происходят в пределах нормы (кривая 2). Однако динамика изменения диаметра зрачка во времени показывает, что такое количество вещества является порогом, за пределами которого изменение параметра пупиллометрии становится достоверным.

Аналогичные результаты были получены при исследовании воздействия других фосфорорганических соединений, таких как ДФФ и армин.

Заключение. Таким образом, порогом чувствительности метода при попадании ФОВ на слизистую глаз (например, из атмосферного воздуха) следует считать количество токсиканта на уровне 10^{-9} М. Отметим, что активность холинэстеразы при попадании в организм такого количества токсиканта не изменяется.

Метод пупиллометрии целесообразно применять в качестве наиболее тонкого и чувствительного индикатора начальных признаков интоксикации ФОС. Характерно, что при больших дозах ценность пупиллометрии как диагностического инструмента уменьшается. Так, например, при подкожном введении в дозах, близких к DL_{50} , вместо миоза наблюдается мидриаз. Но при та-

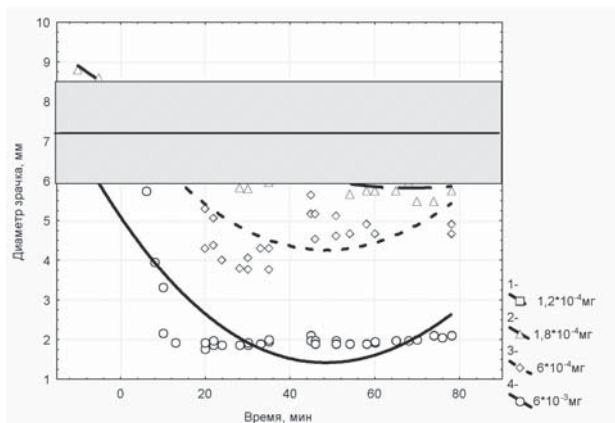


Рис. Динамика изменения диаметра зрачка во времени при инстилляции фосфакола в конъюнктивальный мешок в различных разведениях (масса вещества, мг)

ких дозах применение чувствительного метода диагностики и не требуется, так как имеет место отчетливая клиническая картина интоксикации ФОС.

Поскольку пупиллометрия является неинвазивным методом, обладает высокой пропускной способностью, то применение пупиллометрии для проведения экспресс-диагностики интоксикации ФОВ, а также для проведения до- и послесменных обследований персонала, контактирующего с ФОВ, является весьма перспективным.

Список литературы

1. Вельховер Е. С., Ананин В. Ф. Пупиллодиагностика. - М.: Изд-во УДА, 1991. - 212 с.
2. Сборник инструктивно-методических документов по проблеме уничтожения химического

оружия. Ч II. Фосфорорганические отравляющие вещества. - М.: ФУ «Медбиоэкстрем» МЗ РФ, 2001. - С. 96-103.

3. Голиков С.Н. Руководство по токсикологии отравляющих веществ. - М.: Медицина, 1978. - 125 с.

4. Куценко С.А. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита. - СПб.: Фолиант, 2004. - 527 с.

5. Зеленецкий Н.В. Кролик. - СПб.: Агропромиздат, 2002. - 448 с.

6. Ellman G.L., Courtney D.K., Andres V.Jr. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // *Biochem. Pharmacol.*, 1961. - V. 7. - P. 88-95.

Материал поступил в редакцию 03.07.06.

F.A.Tsimbal, M.V.Tsimbal, S.N.Subbotina, N.V.Goncharov, L.M.Glashkina

INVESTIGATION OF THE SENSITIVITY THRESHOLD OF THE PUPILLOMETRY METHOD AT POISONING BY ORGANOPHOSPHOROUS COMPOUNDS

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical and biological Agency, St.Petersburg

Diagnostic and prognostic significance of the pupillometry method was investigated in experiments on experimental animals using different ways of intake of organophosphorous compounds. A high sensitivity of the method was shown at the instillation of different kinds of organophosphorous compounds in the conjunctival sac of rabbits, but the activity of holinesterase did not alter when the same amount of toxicant was taken up by the organism.

УДК [615.282:546.212]:[543.544.3:542.61]

Н.Л.Корягина, Е.И.Савельева, Н.В.Гончаров, Н.С.Хлебникова, А.С.Радилов

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ИОНИЗАЦИОННО-ПЛАМЕННЫМ И МАСС-СЕЛЕКТИВНЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФТОРАЦЕТАТА НАТРИЯ В ВОДЕ И БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРОБАХ

НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека, пос. Кузьмоловский, Ленинградская обл.

Предложен новый метод анализа высокотоксичного соединения – фторацетата натрия, методами газовой хроматографии с ионизационно-пламенным и масс-селективным детектированием в биологических пробах и воде. Метод основан на упаривании пробы досуха, этилировании сухого остатка этиловым спиртом в присутствии серной кислоты. Селективное определение фторацетата натрия в воде возможно с чувствительностью 0,001 мкг/мл, предел обнаружения в плазме крови и гомогенатах тканей, соответственно 0,01 мкг/мл и 0,01 мкг/г.

Ключевые слова: фторацетат натрия, парофазный анализ, твердофазная микроэкстракция, газовая хроматография, биомедицинские пробы.

Введение. Во многих странах в целях регуляции численности популяций некоторых грызунов и хищных птиц используется фторацетат натрия. Фторацетат натрия (ФАН), также дру-

гие соли фторуксусной кислоты (ФК), хорошо растворимы в воде, не имеют вкуса и запаха, являются сильнодействующими метаболическими ядами, вызывающими гибель животных в ре-

зультате образования фторцитрата, блокирующего фермент аконитазу в цикле Кребса. Кроме того, прямой эффект некоторых родентицидов (фторацетамид, 1,3-дифтор-2-пропанол) и побочные эффекты ряда лекарственных препаратов (5-фторурацил, капецитабин, изомеры фторэтилнитрозомочевины, N-(2-фторэтил), производных наркотических анальгетиков (нормеперидин и норметазоцин), — связаны с образованием в организме ФК [2, 3, 5, 6, 22, 24].

Химический анализ ФК и её солей является сложной задачей ввиду высокой поляризованности фтор-углеродной связи. Первые данные по хроматографическому анализу ФК опубликованы в 1965 г. Гершоном и Ренвиком (Gershon and Renwick) [7], которые предприняли попытку разделения низкомолекулярных фторкарбонных кислот на короткой медной колонке. Первая попытка анализа ФК в биологических пробах предпринята Стивенсом (Stevens) с соавторами [20] с использованием стеклянной колонки с сорбентом Porapak Q и пламенно-ионизационным детектором. Авторам [20] не удалось избежать перекрытия пика ФК с биогенными кислотами. Неудачными оказались и первые попытки определения фторуксусной кислоты методами газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХМС) [14, 21] ввиду её адсорбции на горячей поверхности металлического ГХМС интерфейса. Ввиду перечисленных проблем проводились исследования в целях определения ФАН в различных средах методами жидкостной хроматографии [15, 9, 1].

В работе [10] описано определение ФК в растительном материале и содержимом желудка методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием. В то же время продолжают поиски оптимального решения для определения ФАН методами капиллярной газовой хроматографии. Для определения нелетучей ФК с использованием газовой хроматографии требуется предварительное получение летучих производных. В этих целях наиболее часто использовали получение метиловых [20, 19], этиловых или n-пропиловых [12], а также пентафторбензиловых [25, 26, 23] эфиров. Для определения ФАН в воде [12] и позднее — в сыворотке крови [4] методом газовой хроматографии использовали дериватизацию 2,4-дихлоранилином в присутствии N,N-дициклогексилкарбодиимида. Этот же метод авторы [10] использовали для определения ФАН после его извлечения из биологических проб и почвы с помощью сильноосновного анионообменника

DOWEX 1-8.

М.Мори с соавторами [11] разработали простой в исполнении способ определения ФАН в виде этилового эфира ФК в режиме статического парофазного анализа с использованием ионизационно-пламенного детектора и капиллярной колонки DB-5. В работе [11] водные растворы ФАН упаривали досуха, сухой остаток этилировали этанолом в присутствии серной кислоты в герметично закупоренной хроматографической вials, по окончании реакции этилирования необходимый объём газовой фазы вводили в испаритель газового хроматографа. Диапазон линейности по данным [11] составляет 5–200 мкг ФАН в 1 мл воды, предел обнаружения — 0,5 мкг/мл.

В настоящей работе предложен новый метод определения ФАН в воде и в биологических пробах, основанный на этилировании ФК этанолом в присутствии серной кислоты. Этиловый эфир ФК определяли методом твердофазной микроэкстракции (SPME) с последующим ГХМС анализом. Предел обнаружения этилового эфира ФК в пересчете на ФАН составляет 0,001 мкг в 1 мл воды и 0,01 мкг в 1 мл плазмы крови или 1 г биологического материала. Ошибка анализа в области концентраций, близких к пределу обнаружения, не превышает 50%.

Материал и методы исследования. Объекты исследования. В качестве объектов исследования использовали водопроводную воду, которую вносили ФАН непосредственно перед анализом, а также биологические пробы, как содержащие искусственные добавки ФАН, так и полученные после интоксикации животных (белых крыс Wistar) ФАН в дозе 0,8 мг/кг ($1/2 DL_{50}$). В работе были исследованы следующие биологические пробы: плазма крови, гомогенаты органов мозга, печени, почек, сердца. Плазму крови получали по стандартным процедурам с использованием гепарина в качестве антикоагулянта. Гомогенаты органов готовили растиранием навески биологического материала с равным по массе количеством воды в жидком азоте и хранили до начала анализа в замороженном виде не более 7 суток. В ходе эксперимента были также проанализированы контрольные пробы, отобранные от животных, не получавших ФАН.

Вскрытие животных и взятие образцов крови и тканей производили после декапитации.

Химические реактивы и материалы. Этиловый спирт, толуол, четыреххлористый углерод, ацетонитрил, серная кислота, квалификации не ниже «хч» (Экрос, Россия).

Фторацетат натрия синтезировали по стан-

дартной процедуре в НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека. Содержание основного вещества, по данным ХМС, не менее 98%.

Все хроматографические материалы приобретали у фирмы Supelco (Шнейльдорф, Германия).

Комплекс приспособлений, включающий установку для подогрева и перемешивания проб, держатель микроволокна, хроматографические вials для парофазного анализа объемом 4 мл (Manual SPME Sampling Stand (Supelco # 57333-U)). Микроволокно Carboxen/PDMS 75 μm (Supelco # 57344-U). Микроволокно Polyacrylate Coating 85 μm (Supelco # 57304-U). Микроволокно Carboxen/PDMS StableFlex 85 μm (Supelco # 57334-U). Хроматографическая колонка SPB-5 (30m x 0.2 mm x 0.2 μm) (Supelco).

Оборудование. Газовый хроматограф-масс-спектрометр GCMS-QP5000 (Shimadzu).

Газовый хроматограф HP 5890 (Hewlett Packard) с ионизационно-пламенным детектором). Нагревательное устройство «Heater» (США).

Определение фторацетата натрия в воде и плазме крови методом статического парофазного анализа. Анализ ФАН после его превращения в летучий этиловый эфир ФК проводили методом газовой хроматографии в режиме статического ПФА с использованием газового хроматографа HP 5890 фирмы Hewlett Packard с ионизационно-пламенным детектором и капиллярной колонкой DB-5 25m x 0.2mm x 33 μm . Использовали метод, предложенный авторами [22] с рядом существенных модификаций.

Подготовка проб. В хроматографическую вial для ПФА вместимостью 10 мл вносили 1 мл водопроводной воды или депротенизированной плазмы крови, содержащих от 10 до 100 мкг фторацетата натрия, упаривали досуха при 60°C.

Условия проведения статического парофазного анализа. К сухому остатку добавляли 30 мкл концентрированной серной кислоты и 70 мкл раствора толуола в этаноле с концентрацией 200 мкг/мл (v/v). Вialу с реакционной смесью герметично закупоривали, обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин, выдерживали 30 мин в нагревательном устройстве при 60°C и отбирали 1 мл равновесной паровой фазы для газохроматографического анализа.

Газохроматографический анализ проводили в изотермическом режиме. Температура колонки 50°C, инжектора и детектора – 200°C. Газовую пробу объемом 1 мл вводили с делением потока 1:30.

Калибровочные определения проводили путем внесения известных количеств ФАН в водопроводную воду и плазму крови контрольных животных. Диапазон линейности 5–100 мкг/мл, предел обнаружения 5 мкг/мл в случае водных проб и 10–100 мкг/мл, 10 мкг/мл для плазмы крови, соответственно.

Обработку проб проводили по методу внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта использовали толуол.

Подготовка проб, условия проведения анализа методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии в сочетании с твердофазной микроэкстракцией. К 1 мл плазмы крови добавляли 3 мл ацетонитрила, тщательно перемешивали и центрифугировали 10 мин при 7000 об/мин. Супернатант переносили в вialу для ПФА. Белковый осадок взбалтывали с 1 мл смеси ацетонитрил – вода (3:1) и центрифугировали в том же режиме. Объединенный супернатант упаривали досуха в хроматографической вiale, обрабатывали и анализировали как описано ниже.

К гомогенатам органов после размораживания добавляли ацетонитрил в количестве 4 мл на 1 г навески органа, взятой на анализ, и центрифугировали 15 мин при 7000 об/мин, супернатант сливали в хроматографическую вialу для парофазного анализа, а к осадку добавляли (2x1 мл) водно-ацетонитрильной смеси и обрабатывали как указано выше. Объединенный супернатант упаривали досуха.

Этилирование ФК в сухом остатке этиловым спиртом в присутствии серной кислоты и определение этилового эфира ФК в равновесной паровой фазе методом SPME при анализе воды, гомогенатов органов и плазмы крови проводили в идентичных условиях: к сухому остатку добавляли 30 мкл концентрированной серной кислоты и 70 мкл этилового спирта, содержащего четыреххлористый углерод и толуол в диапазоне концентраций 2–20 мкг/мл в качестве внутренних стандартов. Реакционную смесь выдерживали при температуре 55°C при постоянном перемешивании в герметично закупоренной вiale в течение 15 мин, после чего через пробку вials в газовую фазу над реакционной смесью вводили микроволокно Carboxen/PDMS StableFlex 85 μm и выдерживали в течение 10 мин. Термодесорбцию аналитов проводили в испарителе газового хроматографа при температуре 280°C.

Хромато-масс-спектрометрический (ХМС) анализ проводили с использованием двух внутренних стандартов (толуол, четыреххлористый углерод) с применением газового хроматографа-

Таблица 1

ГХМС параметры для анализа ФА по методу внутреннего стандарта в биологических пробах

Соединение	M/z качеств.	M/z количеств.	RT, мин.
Четыреххлористый углерод	117, 118	117	5,1
Этиловый эфир фторуксусной кислоты	61, 78, 91	61	5,7
Толуол	91, 92	91	7,4

Примечание: M/z качеств. – массовые числа ионов для идентификации веществ

M/z количеств. – массовые числа ионов, интенсивность сигналов которых использовали в количественном анализе

масс-спектрометра GCMS-QP5000 (Shimadzu) и капиллярной колонки SPB-5 (30 м x 0,2 мм x 0,2 мкм) (Supelco). Анализ проводили в режиме программирования температуры: от 40°C (1 мин) со скоростью 5°/мин до 200°C. Съемку масс-хроматограмм проводили в режиме электронного удара с регистрацией избранных ионов (табл. 1). Условия ГХМС анализа: температура инжектора и детектора 280°C, ввод пробы без деления потока, время задержки сброса (splitless) – 0,3 мин.

Результаты и обсуждение. Простой в исполнении способ определения ФАН в виде этилового эфира ФК в режиме статического парового анализа с использованием ионизационно-пламенного детектора и капиллярной колонки DB-5 пригоден для определения ФАН в питьевой воде в концентрации 5 мг/л и выше, в плазме крови 10 мг/л, соответственно.

Для повышения чувствительности анализа в рамках данного метода просматриваются лишь две возможности: увеличение объема водной или газовой пробы. Первое связано со значительным увеличением продолжительности анализа, поскольку любые попытки интенсифицировать упаривание приводят к потерям аналита. Увеличение объема отобранной для анализа газовой пробы свыше 1 мл требует использования специальных технических приспособлений, что удорожает и усложняет анализ, не давая существенного выигрыша в чувствительности. Значительно (почти в 100 раз) чувствительность ана-

лиза удалось повысить при использовании метода твердофазной микроэкстракции (SPME).

Метод SPME основан на сорбционном извлечении аналита из жидкой или газообразной пробы на микроволокне, представляющем собой жидкий или твердый сорбент, нанесенный на микропористый носитель, с последующей термодесорбцией аналита в инжекторе хроматографа.

SPME находит всё более широкое распространение в сочетании как с газовой, так и с жидкостной хроматографией. При использовании газовой хроматографии (как в нашем случае) для термодесорбции аналита в испарителе хроматографа используется режим анализа без деления потока (splitless) и лайнер специальной конструкции, имеющий внутренний диаметр, не превышающий 1–2 мм. Если SPME в сочетании с газовой хроматографией используется для анализа нелетучих соединений, дериватизация последних может быть произведена в пробе, на микроволокне и в испарителе хроматографа. Применительно к анализу ФК выбор должен быть сделан между первыми двумя подходами.

В работе [18] предложен метод анализа ФК в биологических пробах, предусматривающий ее дериватизацию пиренилдиазометаном на микроволокне Stable-Flex DVB-Carboxen. Диапазон линейности при определении ФК в сыворотке крови по данным [18] составлял 0,02–0,5 мкг/мл. При воспроизведении метода [18] в нашей лаборатории стабильного определения 1-пире-

Таблица 2

Результаты определения содержания ФК в пересчете на ФАН в гомогенатах органов и плазме крови кроликов, подкожное введение 0,12 мг/кг (1/2 DL₅₀)

Объект анализа	Содержание ФАН			
	1 ч	3 ч	6 ч	24 ч
Печень, мкг/г	**	_*	_*	_*
Почки, мкг/г	**	0,03±0,005	_*	_*
Мозг, мкг/г	**	_*	_*	_*
Сердце, мкг/г	**	_*	_*	_*
Плазма, мкг/мл	0,5±0,07	0,2±0,05	_*	_*

Примечание: * – ФК не обнаружен, предел обнаружения 0,01 мкг/г для органов и 0,01 мкг/мл для плазмы

** – определение не проводили

**Результаты определения ФК в пересчете на ФАН в гомогенатах органов и плазме крови крыс.
Интоксикация ФАН в дозе 1/2 DL₅₀ перорально (0,8 мг/кг)**

Объект анализа	Содержание ФАН			
	1 ч	3 ч	6 ч	24 ч
Печень, мкг/г	0,9±0,4	0,6±0,06	0,3±0,07	0,02±0,004
Почки, мкг/г	1,2±0,2	3,6±0,8	0,5±0,2	0,4±0,2
Мозг, мкг/г	0,2±0,03	0,2±0,03	0,8±0,2	0,9±0,3
Сердце, мкг/г	1,0±0,3	2,0±0,2	2,2±0,5	0,05±0,02
Плазма, мкг/мл	0,8±0,04	2,5±0,5	1,1±0,2	*

Примечание: * – ФК не обнаружена, предел обнаружения 0,01 мкг/мл

нилметилового эфира ФК в режиме дериватизации на микроволокне с чувствительностью, заявленной в [18], не достигалось, и мы сочли более рациональным проводить дериватизацию ФК в пробе.

Для успешного использования метода SPME решающее значение имеет правильный выбор микроволокна, условий проведения сорбции (температура, время, режим перемешивания пробы, ионная сила анализируемого раствора) и десорбции (температура, время задержки сброса – «sampling time»).

Выбор микроволокна. При этилировании фторуксусной кислоты этанолом в присутствии серной кислоты возникает проблема короткого «времени жизни» микроволокна ввиду необходимости отбора пробы в присутствии паров серной кислоты.

Для экстракции высокополярных соединений обычно используют 85 мкм слой полиакрилата на кварцевом волокне. Действительно, использование микроволокна Polyacrylate Coating 85µm давало чувствительность значительно выше, чем при использовании микроволокна Carboxen/PDMS 75 µm и Carboxen/PDMS StableFlex 85 µm. Однако нам пришлось отказаться от использования этого микроволокна из-за «короткого времени жизни» в агрессивной среде, в которой протекает реакция этилирования (полиакрилаты растворимы в ароматических углеводородах – использование толуола в качестве внутреннего стандарта; концентрированная серная кислота). Чувствительность резко снижается уже после первой экстракции.

Микроволокно Carboxen/PDMS 75 µm в присутствии серной кислоты также оказалось недостаточно устойчивым. Полидиметилсилоксан распадался в агрессивной среде на мономеры, некоторые из них коэлюировались с аналитом и внутренним стандартом, что затрудняло идентификацию. Чувствительность микроволокна

Carboxen/PDMS 75 µm заметно снижалась уже после 4–5 экстракций.

Микроволокно Carboxen/PDMS StableFlex 85 µm оказалось достаточно устойчивым к действию агрессивных компонентов. Снижение времени сорбции до 10 мин позволяет использовать микроволокно для 18–20 экстракций без заметной потери чувствительности.

Выбор оптимального времени, необходимого для наступления равновесия в паровой фазе. Для того чтобы установить время, необходимое для наступления полного равновесия в паровой фазе, в режиме статического парового анализа (ПФА) была исследована зависимость площади пика образующегося в процессе реакции этилфторацетата от времени инкубирования реакционной смеси. Проведенное исследование показало, что через 25 мин после смешения компонентов реакции наступает равновесие в паровой фазе.

Из рис. следует, что максимальная концентрация фторуксусной кислоты в равновесной паровой фазе достигалась через 25 мин. Через 15 мин после смешения реагентов микроволокно помещали в равновесную паровую фазу.

Оптимизация разработанного метода. Работа [17], посвящённая анализу хлор- и бромуксусных кислот в воде методом SPME, была взята за основу при оптимизации разработанного метода. В работе [16] тем же коллективом авторов предложен более «щадящий» метод алкилирования (этилирования или метилирования) хлор- и бромуксусных кислот – диэтилсульфидом или диметилсульфидом, соответственно. Реакция протекает в водной среде в присутствии катализатора фазового переноса. Несмотря на очевидную привлекательность метода, заключающуюся в отсутствии необходимости упаривания досуха водной пробы и агрессивного воздействия паров серной кислоты на микроволокно, его не удалось адаптировать применительно к анализу ФК, предел обнаруже-

ния которой в водной пробе объемом 10 мл не превышал 1 мкг, что лишало смысла применение метода SPME как такового, поскольку утрачивалось преимущество в чувствительности по сравнению с процедурой, описанной в [11].

При этилировании хлор- и бромуксусных кислот этанолом в присутствии серной кислоты авторы [17] в качестве одной из основных проблем указывают на короткое «время жизни» микроволокна ввиду необходимости отбора пробы в присутствии паров серной кислоты. Мы также столкнулись с этой проблемой и наиболее рациональными способами её преодоления считаем использование более стабильного волокна марки PDMS-Carboxen-Stable-Flex 75 μm , а также снижение времени сорбции. Метод газовой хроматографии с ионизационно-пламенным детектированием в сочетании с SPME, производимой в оптимальных условиях, обеспечивает надежное определение содержания ФК в воде в диапазоне концентраций 0,001–10 мкг/мл.

Важнейшей особенностью биологических матриц является их насыщенность органическими соединениями, в том числе коэлюируемыми с производными ФК. С учетом вышесказанного идентификация этилового эфира ФК в биологических пробах в режиме неселективного детектирования затруднена. Поэтому содержание ФК в плазме крови и гомогенатах органов опытных животных определяли методом ГХМС в режиме мониторинга избранных ионов с использованием двух внутренних стандартов: четыреххлористого углерода (RT 5,1 мин) и толуола (RT 7,4 мин). Калибровочные определения проводили путем внесения заведомых количеств ФАН в плазму крови контрольных животных. Диапазон линейности 0,01–5 мкг/мл, предел обнаружения 0,01 мкг/мл; $y = 0,1656x$, $R^2 = 0,9772$ для внутреннего стандарта четыреххлористого углерода;

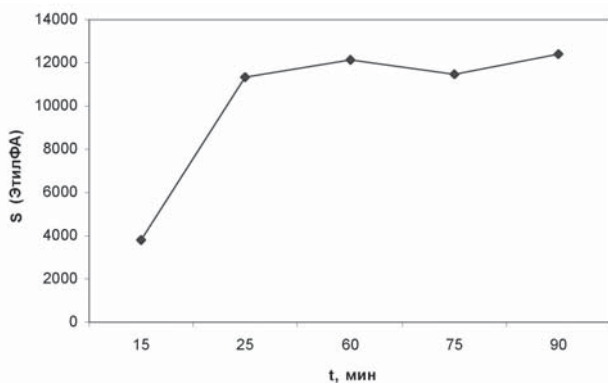


Рис. Зависимость полноты протекания реакции от времени инкубирования (статический ПФА)

S (ЭтилФА) – площадь пика этилфторацетата, отн. ед.
t, мин – время протекания реакции

$y = 0,0141x$, $R^2 = 0,9564$ для внутреннего стандарта толуола.

При анализе водных проб удовлетворительные результаты достигались при использовании газовой хроматографии с неселективным детектированием (ПВД). Отсутствие компонентов, коэлюируемых с аналитом или внутренним стандартом, оправдывало проведение процедуры с использованием одного внутреннего стандарта (толуола). Ввиду возможного частичного перекрытия пика внутреннего стандарта с матричными компонентами пробы, при анализе биологических проб использовали два внутренних стандарта (толуол и четыреххлористый углерод). Калибровочные определения были также проведены для 2-х стандартов. При анализе каждой пробы исследовали чистоту пиков внутренних стандартов. Поскольку содержание ФК в анализируемой пробе не может быть предсказано, один из внутренних стандартов (четырёххлористый углерод) вносили в пробу в количестве, близком к нижней границе линейного диапазона, другой (толуол) – в количестве, близком к верхней границе линейного диапазона.

Результаты анализа содержания ФК в пересчете на ФАН в органах кроликов, плазме крови кроликов (табл. 2), органах и плазме крыс (табл. 3) получены с применением разработанной методики на основании 4–6 параллельных определений преимущественно пулированных образцов от 2–3 животных.

Через 3 ч после введения кроликам ФАН в дозе $\frac{1}{2} DL_{50}$ ФК была обнаружена лишь в почках. К сожалению, в данной серии экспериментов не проводили определение ФК в органах кроликов через 1 ч после затравки. В то же время, как следует из табл. 2, в плазме кроликов через 1 ч выявлено максимальное количество ФК (0,5 мкг/мл при затравке ФАН в дозе $\frac{1}{2} DL_{50}$). Через 3 часа в плазме обнаруживается значительно меньше ФА (0,2 мкг/мл), а через 6 и 24 ч – не обнаруживается.

Иная картина при отравлении крыс эквивалентной дозой ФАН: в почках, сердце и плазме максимальное количество ФК выявлено через 3 ч, в мозге – через 6 и 24 ч, и лишь в печени через 1 час после отравления (табл. 3).

Заключение. Одним из наиболее рациональных методов определения ФАН является ГХМС анализ этилового эфира фторуксусной кислоты. Метод твердофазной микроэкстракции позволяет существенно (на порядок и более) повысить чувствительность ГХМС определения ФАН, а в анализе биологических проб может выступать в качестве оптимального средства преодоления матричного эффекта, обеспечивает возможность

защиты хроматографической и масс-спектрометрической систем.

Ретроспективный анализ биологического материала при подозрении на интоксикацию ФА целесообразно проводить с учетом распределения вещества во времени при пероральном поступлении. Данные табл. 3 свидетельствуют о достаточно быстрой убыли ФА из плазмы крови (период полувыведения у крыс – около 3 ч), через сутки концентрация падает ниже предела обнаружения. С точки зрения судебно-медицинской экспертизы наиболее привлекательно проведение анализа в мозгу, где происходит накопление ФА (максимальные концентрации по сравнению с другими органами к исходу первых суток) и почках, которые являются основным путем выведения вещества.

Кроме того, понимание особенностей токсикокинетики фторацетата безусловно важно для теоретического и экспериментального обоснования новых принципов терапии острых отравлений [8].

Авторы выражают благодарность Л.М.Глашкиной и М.О.Мироновой за предоставление биологических проб.

Работа выполнена в рамках партнерского проекта МНТЦ 2629, финансируемого программой Биопромышленная Инициатива (BioIndustry Initiative, BII) Госдепартамента США.

Список литературы

1. Allender W.J. // *J. Anal. Toxicol.*, 1990. – V. 14. – P. 45-49.
2. Arellano M., Malet-Martino M., Martino R. et al. // *Br. J. Cancer*, 1998. – V. 77. – P. 79-86.
3. Braverman Y. // *J. Wildl. Dis.*, 1979. – V. 15. – № 2. – P. 319-325.
4. Demarchi A.C.C.O, Menezes M.L., Mercadante A. et al. // *Chromatographia*, 2001. – V. 54. – P. 402-404.
5. Desmoulin F., Gilard V., Malet-Martino M. et al. // *Drug Metab Dispos.*, 2002. – V. 30. – № 11. – P. 1221-1229.
6. Feldwick MG, Noakes PS, Prause U. et al. // *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 1998. – V. 12. – № 1. – P. 41-52.

7. Gershon H., Renwick J.A.A. // *J. Chromatogr.*, 1967. – V. 28. – P. 399-403.
8. Goncharov N.V., Jenkins R.O., Radilov A.S. // *J. Appl. Toxicol.*, 2006. – V. 26. № 2. – P. 148-161.
9. Livanos G., Milham P. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1984. – V. 67. – P. 10-12.
10. Minnaar P.P. et al. // *J. Chromatogr. Sci.*, 2000. – V. 38. – P. 16-20
11. Mori M., Nakajima H., Seto Y. // *J. Chromatogr. A*, 1996. – V. 736. – P. 229-234.
12. Ozawa H., Tsukioka T. // *Anal. Chem.*, 1987. – V. 59. – P. 2914-2917.
13. Ozawa H., Tsukioka T.L. // *J. Chromatogr. A*, 1989. – V. 473. – P. 251-259.
14. Peterson J.E. // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1975. – V. 13. – P. 751-757.
15. Ray A.C., Post L.O., Reagor J.C. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1981. – V. 64. – P. 19-24.
16. Sarrion M.N., Santos F.J., Galseran M.T. // *Anal. Chem.*, 2000. – V. 72. – P. 4865-4873.
17. Sarrion M.N., Santos F.J., Galseran M.T. // *J. Chromatogr. A*, 1999. – V. 859. – P. 159-171.
18. Sporkert Frank et al. // *J. Chromatogr. B*, 2002. – V. 772. – P. 45-51.
19. Stahr H.M. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1977. – V. 60. – P. 1434-1435.
20. Stevens H.M., Moffat A.C., Drayton J.V. // *Forensic Sci.*, 1976. – V. 8. – P. 131-137.
21. Tannock J. // *Rhod. J. Agric. Res.*, 1975. – V. 13. – P. 67-72.
22. Teclé B., Casida J.E. // *Chem. Res. Toxicol.*, 1989. – V. 2 – № 6. – P. 429-435.
23. Vartiainen T., Kauranen P. // *Anal. Chim. Acta*, 1984. – V. 157. – P. 91-97.
24. Yeh K.H., Cheng A.L. // *J. Formos. Med. Assoc.*, 1994. – V. 93. – № 8. – P. 721-723.
25. Okuno I., Meeker D.L. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1980. – V. 63. – P. 49-55.
26. Okuno I., Meeker D.L., Felton R.R. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1982. – V. 65. – P. 1102-1105.

Материал поступил в редакцию 12.07.06.

N.L.Koryagina, Ye.I.Savelieva, N.V.Goncharov, N.S.Khlebnikova, A.S.Radilov

DETERMINATION OF THE CONCENTRATION OF SODIUM FLUOR ACETATE IN WATER AND BIOMEDICAL SAMPLES USING FLAME IONIZATION AND MASS-SELECTIVE GAS CHROMATOGRAPHY

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, post box Kuznolovskiy, Leningrad Region

A new method was designed for analysis and detection of sodium fluoroacetate, a high toxic compound, in biological samples and water using flame-ionization and mass-selective gas chromatography. The method is based on evaporation of the sample to dryness, ethylation of solids with the help of ethanol in the presence of sulphuric acid. A selective estimation of sodium fluor acetate in water is possible with sensitivity of 0.001 mg/ml and detection limit in blood plasma and tissues homogenates is 0.01mg/ml and 0.01mg/g correspondingly.

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

УДК 615.9 (095 Березовская)

ИРИНА ВЛАДИМИРОВНА БЕРЕЗОВСКАЯ (к 70-летию со дня рождения)

10 декабря 2006 г. исполнилось 70 лет со дня рождения заведующей отделом лекарственной безопасности Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ, доктора медицинских наук, профессора **Ирины Владимировны Березовской**.

В 1960 г. И.В.Березовская окончила с отличием лечебно-профилактический факультет Казанского государственного медицинского института. С 1960 по 1962 гг. работала старшим лаборантом в лаборатории токсикологии Академии наук ТаССР, с 1962–1969 гг. – ассистент кафедры фармакологии Казанского государственного медицинского института, с 1969–1972 – заведующая лабораторией токсикологии Ангарского Института биофизики МЗ СССР, с 1973 г. по 1976 г. – заведующая лабораторией лекарственной токсикологии НИИ по биологическим испытаниям химических соединений, с 1988 г. по настоящее время – заведующая отделом лекарственной безопасности Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ (г. Старая Купавна, Московская обл.).

В 1965 г. защитила кандидатскую диссертацию, а в 1986 г. защитила докторскую диссертацию в Военно-медицинской академии (г. Ленинград) по специальности – «токсикология» с присвоением ученой степени доктора медицинских наук. В 2001 г. ей присвоено ученое звание профессора.

И.В.Березовская – автор более 250 печатных работ, в том числе 15 авторских свидетельств и соавтор «Руководства по содержанию лабораторных животных в питомниках и экспериментально-биологических клиниках (вивариях)», 2003.

Впервые в стране в соавторстве с коллегами И.В. Березовской разработаны «Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ», утвержденные МЗ СССР в 1985 г.

В составе коллектива авторов ею подготовлен, утвержденный Минмедпромом, нормативный документ «Правила доклинической оценки безопасности фармакологических веществ (GLP)-РД-64-126-91, «Правила доклинических исследований безопасности и эффективности фармакологических веществ» и «Методические указания

по изучению общетоксического действия фармакологических веществ», изданные МЗ РФ в 2000 г.

Под руководством И.В.Березовской проведена оценка безопасности более 25 оригинальных лекарственных препаратов и более 150 дженериков.

И.В.Березовской подготовлено 5 учеников, успешно защитивших кандидатские диссертации по специальности «фармакология» и «токсикология».

И.В. Березовская – постоянный член Ученого Совета ВНИЦ БАВ с 1977 г., член Специализированного Ученого Совета при ВНИЦ БАВ по специальности «фармакология, клиническая фармакология», с 1988 г., с 1993 г. – член Межведомственного Научного совета по токсикологии химических веществ и природных токсинов.

В качестве члена Оргкомитета И.В. Березовская принимала активное участие в организации Всесоюзных и Всероссийских научных конференциях по проблемам фармакологии и лекарственной фармакологии (Москва, 1981, 1989, 1990, 1992).

В течение ряда лет И.В.Березовская являлась секретарем Купавинского отделения Всероссийской общественной организации токсикологов (ВООТ), а в 1998 г. – в составе Правления ВООТ.

И.В.Березовская принимала активное участие в работе Бюро по сертификации лекарственных препаратов при Техническом Управлении Минмедпрома и в подготовке технической документации для строительства вивария в ВНИЦ БАВ в соответствии с международными требованиями.

И.В.Березовская многократно представляла отечественную лекарственную токсикологию за рубежом, выступая с докладами и возглавляя отечественные делегации на международных конгрессах по токсикологии (Дания, 1976; ГДР, 1979; Венгрия, 1981; Румыния, 1983; Англия, 1989).

С 1992 г. в течение 15 лет И.В.Березовская возглавляла Фармакологическую комиссию Фармакопейного комитета МЗ РФ, обеспечивающую экспертную оценку нормативной документации по биологическим методам контроля безопасности лекарственных средств, являлась членом Президиума ФК МЗ. В течение ряда лет работа-

ла экспертом в токсикологической комиссии ФГУ «НЦЭСМП» МЗ РФ.

Сердечно поздравляем Ирину Владимировну с юбилеем, желаем ей здоровья, благополучия, долгих лет активной творческой жизни и новых достижений.

УДК 615.9 (095 Рожнов)

ГЕННАДИЙ ИВАНОВИЧ РОЖНОВ (к 70-летию со дня рождения)

7 января 2006 г. исполнилось 70 лет со дня рождения видного ученого гигиениста, токсиколога, заместителя директора по научной работе Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ (ВНЦ БАВ), академика Российской академии естественных наук (РАЕН), доктора медицинских наук, профессора **Геннадия Ивановича Рожнова**.

После окончания в 1962 г. санитарно-гигиенического факультета Ростовского медицинского института Г.И.Рожнов в течение трех лет работал главным врачом Энгельской районной СЭС Саратовской области. С 1965 по 1968 гг. учился в аспирантуре в Киевском НИИ общей и коммунальной гигиены им. А.Н. Марзеева. С 1968 по 1979 гг. Г.И. Рожнов работал руководителем лаборатории гигиены воды и отдела коммунальной гигиены Саратовского НИИ гигиены, а затем в лаборатории опресненных вод в НИИ общей и коммунальной гигиены АМН СССР им. А.Н.Сысина. С 1979 по 1988 гг. Г.И. Рожнов руководил работой отраслевой лаборатории по охране окружающей среды Минздрава СССР, был заместителем директора Центрального НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.

С 1988 г. и по настоящее время Г.И.Рожнов – заместитель директора по научной работе и одновременно руководитель лаборатории профилактической токсикологии и отдела экологической и промышленной безопасности ВНЦ БАВ.

Г.И.Рожнов известен в научном мире своими исследованиями в области гигиены и профилактической токсикологии. Им разработаны методические основы безопасности химико-фармацевтических и микробиологических производств, гигиенические критерии регламентации лекарственных средств в объектах производственной и окружающей среды, оптимизации методов нормирования лекарственных средств, методологические прин-

Ученый Совет Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ

Правление Всероссийской общественной организации токсикологов

Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»

ципы гигиенической оценки влияния промышленных предприятий на качество окружающей среды и состояние здоровья населения. Создана система экомониторинга и прогноза токсичности с использованием альтернативных экспресс-методов, в том числе биотестирования на различных биологических объектах.

Г.И.Рожнов – автор более 200 печатных работ по различным направлениям профилактической токсикологии и гигиены окружающей среды, неоднократно выступал с докладами на международных научных конференциях, съездах и симпозиумах, соавтор 5 различных изданий; с его участием разработано и внедрено 14 нормативно-методических документов.

Под руководством Г.И. Рожнова защищено 8 кандидатских и докторских диссертаций, разработано более 400 гигиенических нормативов для лекарственных средств, промежуточных продуктов синтеза, вспомогательных веществ в объектах производственной и окружающей среды.

Г.И.Рожнов – заместитель председателя Ученого совета ВНЦ БАВ, заместитель председателя диссертационного совета по защите кандидатских и докторских диссертаций, член Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Роспотребнадзора, член редколлегии журнала «Токсикологический вестник». Г.И.Рожнов награжден 4 медалями ВДНХ и значком «Отличнику здравоохранения».

Сердечно поздравляем юбиляра и желаем ему здоровья и творческого долголетия.

Правление Всероссийской общественной организации токсикологов

Коллектив ВНЦ БАВ

Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»

НЕКРОЛОГ

УДК 915.9 (095 Куценко)

КУЦЕНКО СЕРГЕЙ АЛЕКСЕЕВИЧ (22.04.1948–25.12.2006)

25 декабря 2006 г. после тяжелой и продолжительной болезни скончался начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии — Главный токсиколог-радиолог Министерства обороны РФ, Заслуженный работник высшей школы РФ, доктор медицинских наук, профессор, генерал-майор медицинской службы **Куценко Сергей Алексеевич**.



С.А.Куценко родился 22 апреля 1948 г. в Петропавловске-Камчатском в семье военного врача. В 1966 г. он поступил и в 1972 г. окончил Военно-медицинскую академию, факультет подготовки врачей для Военно-морского флота. Именно в этот период Сергей Алексеевич начал заниматься в научном обществе слушателей и курсантов, стал готовить первые научные публикации и выступать с докладами на конференциях молодых ученых академии.

Через год после назначения начальником медицинской службы подводной лодки Сергею Алексеевичу, как одному из самых одаренных выпускников, была предоставлена возможность поступления в адъюнктуру при кафедре токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии, после окончания которой в 1977 г., он защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Дальнейшую службу С.А.Куценко проходил на кафедре токсикологии и медицинской защиты академии в качестве преподавателя, а с 1984 г. — заместителя начальника кафедры. При этом С.А.Куценко весьма успешно и плодотворно продолжал заниматься научными исследованиями, которые были посвящены комплексному изучению патогенеза интоксикаций нейротоксикантами, выявлению особенностей взаимодействия нейромедиаторных систем мозга при острых отравлениях, а также поиску путей фармакологической коррекции выявленных нарушений. Полученные результаты позволили Сергею Алексеевичу подготовить диссертационную работу на соискание ученой степени доктора медицинских наук, которая была

успешно защищена в 1987 г. В 1988 г. ему было присвоено ученое звание профессора по кафедре военной токсикологии и медицинской защиты. В дальнейшем С.А.Куценко в течение года руководил учебным отделом Военно-медицинской академии; с 1990 по 1996 г. работал в Научно-исследовательском институте военной медицины МО СССР в должности заместителя начальника (1990–1991 гг.), а затем — начальника института. С 1996 г. до последних дней жизни он занимал должность начальника кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии, являясь одновременно Главным токсикологом-радиологом Министерства обороны РФ.

Сергей Алексеевич внес существенный вклад в развитие теоретических проблем токсикологии, решение медицинских проблем обеспечения химической и радиационной безопасности личного состава Вооруженных Сил и населения России. В своих работах С.А.Куценко убедительно доказал, что совершенствование медицинского обеспечения химической и радиационной безопасности возможно только на пути проведения глубоких научных исследований, основа которых — фундаментальная наука. Такой фундаментальной научной базой медицинской защиты личного состава и населения являются современная токсикология и радиобиология. Данный научный подход был эффективно реализован Сергеем Алексеевичем при руководстве разработкой медикаментозных средств, способствующих сохранению и восстановлению боеспособности личного состава войск при действии радиационных и химических факторов.

Пытливый ученый, блестящий педагог и мудрый воспитатель С.А.Куценко — автор и соавтор более 200 научных работ, среди которых учебники, монографии, учебные пособия, лекции, руководства и указания по специальности. Результаты многолетних научных исследований, богатый опыт педагогической деятельности были обобщены и представлены им в учебнике «Военная токсикология, радиобиология и медицин-

ская защита» (СПб.: Изд-во ФОЛИАНТ, 2004) и монографии «Основы токсикологии» (СПб.: Изд-во ФОЛИАНТ, 2004). В этих трудах, опираясь на работы видных отечественных и зарубежных токсикологов, Сергей Алексеевич сформулировал понятия о предмете современной токсикологии, ее цели и задачах. Им были детально и всесторонне освещены вопросы токсикометрии, токсикокинетики и токсикодинамики ксенобиотиков, подробно рассмотрены современные антидоты и принципы оказания неотложной помощи отравленным. Такой фундаментальный подход позволил автору представить новую концепцию преподавания токсикологии в медицинских вузах.

Наряду с интенсивной научной и педагогической деятельностью Сергей Алексеевич активно занимался общественной работой: он был избран членом правления Санкт-Петербургского и Всероссийского научного общества токсикологов, членом президиума Межведомственного совета РАН и МЗ РФ по токсикологии химических веществ и природных токсикантов.

Имея педагогический стаж более 30 лет, Сергей Алексеевич щедро передавал накопленный

опыт и знания будущим врачам и специалистам медицинской службы Вооруженных Сил РФ. Большое внимание он уделял подготовке специалистов высшей квалификации: под его руководством выполнено 14 кандидатских и 5 докторских диссертаций на темы, актуальные для военно-медицинской службы и здравоохранения. В 2004 г. ему было присвоено почетное звание «Заслуженный работник высшей школы РФ».

Сергей Алексеевич был настоящим подвижником при проведении научных исследований, чутким и отзывчивым руководителем, прекрасным лектором, исключительно порядочным и честным человеком. Светлая память о нем навсегда останется в наших сердцах.

Всероссийская общественная организация токсикологов
Санкт-Петербургское научное общество токсикологов
Военно-медицинская академия
Институт военной медицины МО РФ
ГУ Институт токсикологии Минздравсоцразвития РФ

Федеральное медико-биологическое агентство
 ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека»
 ФГУН «Институт токсикологии»
 Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова

15-16 февраля 2007 г., С.-Петербург

**Всероссийская научно-практическая конференция
 «Актуальные проблемы химической безопасности в Российской Федерации»,
 посвященная 45-летию ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России**

Основные направления работы конференции

- Токсикология, гигиена, профпатология – перспективы развития
- Гигиенические аспекты изучения опасных производств
- Медико-гигиенические аспекты воздействия вредных факторов на организм человека и окружающую среду
- Токсикодинамика, токсикокинетика, характер действия химических соединений
- Гигиеническое регламентирование химических соединений
- Методы изучения токсических эффектов и отдаленных последствий
- Особенности профессиональной патологии при воздействии химических соединений
- Современные методы определения токсичных химикатов в объектах окружающей среды и биологических средах

188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, г.п. Кузьмоловский, ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России
 Контактные телефоны: 8 (812) 449-61-68, 8 (812) 449-61-72
 Тел./факс: 8 (812) 449-61-68
 E-mail: gipeh@lens.spb.ru



БЮЛЛЕТЕНЬ

Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 574.63:574.64

С.А.Остроумов, Е.А.Соломонова

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

Синтетическое моющее средство «Аист-Универсал»: воздействие на *Fontinalis antipyretica Hedw*

Исследовали воздействие синтетического моющего средства (СМС) «Аист-Универсал» на жизнеспособность водного мха *Fontinalis antipyretica Hedw.* (отдел *Bryophyta*, класс *Bryopsida*, подкласс *Bryidae*, порядок *Isobryales*, семейство *Fontinalaceae*). Мхи этого рода растут на различных субстратах в пресноводных водоемах, нередко обрастают бетонные стенки каналов.

«Аист-Универсал» — порошкообразное СМС белого цвета. Состав: поверхностно-активные вещества, натриевые соли фосфата, силиката, карбоната, сульфата, полимеры, оптический отбеливатель, ароматические добавки (ГОСТ 25644-96, ТУ 2381-001-00335215-94, изготовитель — акционерное общество «Аист», Россия).

При постановке опытов в сосуды с отстоянной в течение 48 ч водопроводной водой (объем воды — 1,2 л) помещали растения суммарной биомассой 7,0–7,5 г (сырой вес). Концентрация СМС «Аист-Универсал» составляла:

100, 166, 250 и 300 мг/л. Опыты проводили в двукратных повторностях при температуре воды в сосудах 22+1°C. Результаты представлены в табл.

Из результатов опыта видно, что после 2-х суток воздействия СМС повреждающее воздействие на растения наблюдали при концентрации СМС 250 мг/л и выше. При более длительной инкубации (в течение 5 суток) повреждающее воздействие наблюдали и при меньших концентрациях СМС — начиная с концентрации 100 мг/л и выше.

Полученные результаты дополняют опыты, показавшие нарушение биологических функций организмов при воздействии других СМС. Так, ранее было показано нарушение роста культур эвглен при воздействии СМС «Кристалл» и «Лотос-Автомат» [2], снижение фильтрации воды моллюсками при воздействии СМС «ОМО» [3], торможение роста проростков покрытосеменных растений при действии нескольких СМС [1, 4, 5].

Список литературы

1. Остроумов С.А. Биологические эффекты при воздействии поверхностно-активных веществ на организмы. - М.: МАКС Пресс, 2001. — 344 с.

2. Остроумов С.А., Галяма Д., Блажей А. и др. Синтетические моющие средства (СМС) «Кри-

Таблица

Состояние растений *Fontinalis antipyretica Hedw.* при воздействии СМС «Аист-Универсал»

Концентрация, мг/л	Через 2 суток (48 ч)	Через 5 суток (120 ч)
Контроль	Листья нормальной пигментации (темно-зеленые), нормальный тургор, опадения листьев не наблюдается	Листья нормальной пигментации (темно-зеленые), нормальный тургор, опадения листьев не наблюдается
100	Заметного отличия от контроля не наблюдается	То же
166	Депигментация листьев (светло-зеленые, бледнее, чем в контроле), снижение тургора, опадение части листьев	То же
250	То же	То же
300	То же	То же

сталл» и «Лотос-Автомат» // *Токсикологический вестник*, 1998. — № 5. — С. 29-30.

3. **Остроумов С.А., Колотилова Н.Н.** Синтетическое моющее средство «ОМО» // *Токсикологический вестник*, 2000. — № 5. — С. 43-44.

4. **Остроумов С.А., Хорошилов В.С.** Биотестирование вод, загрязненных поверхностно-активными веществами // *Известия Академии наук, сер. Биологическая*, 1992. — № 3. — С. 452-458.

5. **Остроумов С.А., Хорошилов В.С.** Жидкие моющие средства *Biospul* и «Каштан» // *Токсикологический вестник*, 2001. — № 6. — С. 41-43.

Материал поступил в редакцию 08.09.06.

УДК 621.315.61

Б.С.Симилейская

ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области», Ростов-на-Дону

Электроизоляционный лак ПАК

Лак, разработанный ОАО «Новочеркасский завод синтетических продуктов» согласно СТО 05807999-002-2005, является раствором полипиромеллитамидокислоты в диметилформамиде с массовой долей сухого остатка от 17 до 20%, предназначен для получения пленочных материалов в электронной, электротехнической и радиотехнической отраслях промышленности.

Представляет собой вязкую, прозрачную темно-коричневую жидкость без запаха, с уд. весом 1,04. При комнатной температуре на воздухе образует твердую, прозрачную пленку желтого цвета, по истечении 10–12 ч, которая практически не растворима в воде и в исследованных нами органических растворителях (ацетон, этанол, метилпирролидон, диметилформамид). Установлено, что при нанесении на кожу опытных животных (крыс) лак застывает в течение 4–5 ч.

Эксперимент по изучению токсичности и опасности лака проводили в подостром опыте на лабораторных животных (половозрелых белых крысах, самцах линии Вистар, массой 170–280 г) путем перкутаных аппликаций, т. к. физические свойства лака не позволили вводить его перорально. Исследуемое вещество наносили в дозе 1500–3000 мг/кг (гибель животных не зарегистрирована). Определяли суммационно-пороговый показатель (СПП), достоверных изменений которого в динамике не отмечено.

При многократных накожных аппликациях отмечены достоверные изменения массы тела.

Достоверное снижение массы тела в опытных группах сохранялось на протяжении всего эксперимента. К третьей неделе наблюдения масса тела подопытных животных достоверно не отличалась от контрольной группы.

Наблюдалось достоверное изменение показателей СПП (повышение значений, свидетельствующие о торможении ЦНС), после 10-ти аппликации данный показатель пришел к норме.

В опытной группе отмечено резкое снижение уровня мочевины в крови после 7-ми дней наблюдения (опыт – 2,5 ммоль/л, контроль – 5,0 ммоль/л), которое восстановилось к 4-ой неделе наблюдения.

При оценке состояния кожных покровов отмечено уплотнение, утолщение кожной складки и шероховатость подопытного участка, слабая эритема (1 балл), через 7 дней наблюдения показатели состояния кожи пришли к норме. Шерстный покров подопытных участков тела животных восстановился.

При многократных хвостовых аппликациях отмечены достоверные изменения СПП после 1 аппликации (опыт – 6,2, контроль – 5,1), которые нормализовались после 8-ми аппликаций. В опытной группе отмечена потеря массы тела (опыт – 230 г, контроль – 256,3 г), которая в период наблюдений восстановилась.

Выявленные изменения со стороны массы тела и СПП свидетельствуют о слабом резорбтивном действии лака.

Достоверное снижение уровня мочевины крови на 7-е сутки после последней аппликации, вероятно, следует объяснить усилением анаболических процессов, направленных на восполнение потерянной массы тела, т. к. азот, необходимый для синтеза мочевины, использовался на построение белковых молекул. Этот процесс, возможно, может свидетельствовать об обратимых процессах в организме лабораторных животных, доказательством чего служит нормализация массы тела и уровня мочевины к 21-му дню наблюдений.

При проведении тиопенталовой пробы достоверных различий в скорости засыпания и продолжительности сна не выявлено. При проведении алкогольной нагрузки наблюдалось достоверное повышение показателя СПП через 2 ч после введения алкоголя, которое через 24 ч не отмечалось.

После внесения исследуемого лака в конъюнктивный мешок глаза отмечено незначительное выделение прозрачной жидкости в углу глаза (1 балл). Через 24 ч на слизистой оболоч-

ке опытного глаза отмечено инъецирование сосудов (1 балл), которое в дальнейшем не наблюдалось.

Постановка провокационной пробы изменений количества эозинофилов и гистамина в периферической крови не вызвало, реакция воспаления и РСАЛ отрицательные. Сенсибилизирующее свойство лака не выявлено.

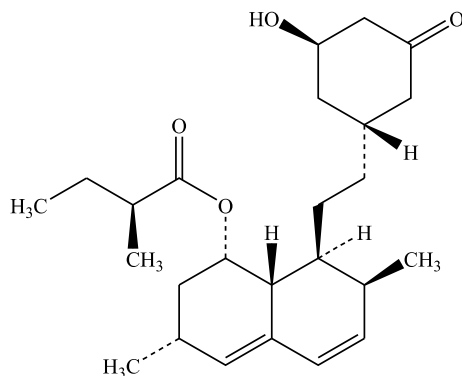
С учетом данных литературы о свойствах входящего в состав лака диметилформамида, рекомендуем ограничить контакт с лаком лиц репродуктивного возраста.

Материал поступил в редакцию 16.10.06.

Н.Г.Иванов, В.С.Поздняков, М.В.Бидевкина,
Н.И.Шейна, Э.Г.Скрябина

ГОУ ВПО «Российский государственный
медицинский университет федерального агентства
по здравоохранению и социальному развитию»,
Москва

[1S-[1- α (R*), 3- α , 7- β , 8- β (2S*, 4S*), 8 α - β]]-1,
2, 3, 7, 8, 8 α -Гексагидро-3,7-диметил-8-[2-(г
етрагидро-4-гидрокси-6-оксо-2Н-пиран-2-ил)
этил]-1-нафталенил 2-метилбутаноат
(ловастатин, мевакор)



CAS № 75330-75-7. Химический класс: лактон. $C_{24}H_{36}O_5$. М.м. 405,1. Белый кристаллический порошок, $T_{пл}$ — 135–138°C. Практически нерастворим в воде, хорошо растворим в хлороформе, метаноле и этаноле.

Область применения: химико-фармацевтическая и медицинская промышленность. Ловастатин относится к сердечно-сосудистым гиполипидемическим средствам группы статинов (вастатины), ингибиторов 3-гидрокси-3-метил-глутарил-кофермента А-редуктазы (ГМГ-КоА-редуктаза).

Применяется при гиперхолестеринемии при отсутствии эффекта от диетотерапии, комбинированной гиперхолестеринемии и триглицери-

демии, ИБС, профилактике инфаркта миокарда и инсульта, атеросклероза.

DL_{50} (в/ж, мыши-самки) составляет 6100 ± 460 мг/кг (IV класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76). Клиническая картина отравления характеризовалась вялостью, слабостью и малой подвижностью животных.

Слабо кумулирует в организме — повторное введение вещества (мыши-самки, метод Lim et al.) гибели животных не вызывало.

Ловастатин не оказывает раздражающего действия на слизистые оболочки, вызывает слабое раздражение при повторных аппликациях на кожу, не обладает кожно-резорбтивным действием, не вызывает развития сенсибилизации.

Для определения Lim_{ac} было испытано 3 концентрации вещества: $38,5 \pm 4,6$, $11,8 \pm 2,1$ и $3,9 \pm 0,4$ мг/м³. У экспериментальных животных измеряли частоту дыхания, оценивали функциональное состояние нервной системы (СПП, тесты «открытое поле», «ТКСО»), печени (содержание гиппуровой кислоты в моче определение активности в сыворотке крови АлАТ и АсАТ), почек (диурез, содержание в моче белка и хлоридов), липидный обмен (содержание общего холестерина, липопротеинов высокой плотности — ЛПВП).

Аэрозоль ловастатина в концентрации на уровне $38,5$ мг/м³ вызывал изменения функционального состояния нервной системы (снижение горизонтальной подвижности в тесте «открытое поле», увеличение латентного периода первого выгладывания и снижение количества выгладываний в тесте «ТКСО»), печени (повышение активности в сыворотке крови АлАТ и АсАТ), и почек (увеличение содержания хлоридов в моче). Имели место и проявления специфической фармакологической активности ловастатина — снижение общего холестерина и ЛПВП в сыворотке крови. После ингаляции аэрозоля ловастатина в концентрации на уровне $11,8$ мг/м³ произошло только уменьшение содержания ЛПВП в сыворотке крови подопытных крыс.

Ингаляция аэрозоля ловастатина в концентрации на уровне $3,9$ мг/м³ не приводила к изменениям регистрируемых показателей интоксикации у экспериментальных животных.

Lim_{ac} (ингаляция, 4 часа, крысы-самки) ловастатина установлен по изменению специфического биомаркера — содержанию ЛПВП в сыворотке крови на уровне $11,8$ мг/м³.

Обоснование ПДК ловастатина проводили на основании расчетов по установленным для не-

го Lim_{ac} , МСТД, ВСТД, а также по аналогии с ранее нормированным симвастатином, для которого ПДК в воздухе рабочей зоны составляет $0,03 \text{ мг/м}^3$.

При обосновании ПДК ловастатина в воздухе рабочей зоны учитывалось также то, что статины обладают иммунодепрессивным действием, оказывают влияние на репродуктивную функцию (у крыс вызывают дегенерацию семенных канальцев, у собак — атрофию яичек, снижение сперматогенеза, дегенерацию сперматозоидов и образование гигантских клеток). Структурные или функциональные аналоги ловастатина оказывают выраженное тератогенное действие. Ловастатин не показал мутагенной активности в тесте Эймса с и без метаболической активации. Его испытания в системе клеток млекопитающих *in vitro* дали отрицательный результат.

В воздухе рабочей зоны для ловастатина установлена ПДК $0,03 \text{ мг/м}^3$, аэрозоль, класс опасности 1 (доп. № 2. ГН 2.2.5.2100-06).

Метод определения в воздухе — хроматографический. Диапазон измеряемых концентраций $0,015 - 0,3 \text{ мг/м}^3$.

В атмосферном воздухе населенных мест утверждён ОБУВ ловастатина $0,0005 \text{ мг/м}^3$ (доп. № 2. ГН 2.1.6.1984-05).

Материал поступил в редакцию 15.12.06.

УДК 614.777+628.315

Г.И.Сидорин¹, Л.А.Аликбаева²

¹ФГУН «Северо-западный научный центр гигиены и общественного здоровья» Роспотребнадзора, С.-Петербург

²ГОУВПО С.-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И.Мечникова Росздрава

Осадок отстойников водопроводных очистных сооружений (ВОС)

Осадок отстойников ВОС — водная эмульсия хлопьевидных частиц коричневого цвета со специфическим запахом и влажностью 97,5%.

В состав осадка входят (в %): оксид кремния (песок) — 25, алюминий — 14, железо — 0,92, кальций — 0,24, магний — 0,15, натрий — 0,10, цинк — 0,10, общий фосфор — 0,092, никель — 0,0036. Зольность сухого осадка — 50%.

Является отходом производства при подготовке воды питьевого качества на водопроводных очистных сооружениях.

DL_{50} (мг/кг), в/ж, мыши: 5000 мг/кг (по па-

раметрам острой токсичности малоопасное вещество, 4-ый класс опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007–76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности». DL_{50} (мг/кг), крысы, в/м — 8 070. Класс опасности осадка для окружающей среды, полученный расчетным методом, соответствует 5-му классу (практически не клинкоопасные).

Клиническая картина острой интоксикации у животных характеризовалась снижением двигательной активности и реакции на внешние раздражители, урежением дыхания.

Осадок не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистые глаз. Входящие в состав осадка компоненты не проникают через кожу в дозах, опасных для теплокровного организма. Аллергобезопасен.

Материал поступил в редакцию 20.11.06.

УДК 547.5

Н.А.Егорова

ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области», Ростов-на-Дону

Оксиам

«Оксиам» представляет собой водный раствор оксидов третичных аминов и пероксида водорода. Выпускается ООО НПП «Дон-Технохим» по ТУ 2482-019-24517290-2006.

При введении продукта в дозе 6 г/кг в желудок белым крысам (самцы) линии Вистар массой 140–150 г гибели животных не было. При оценке функционального состояния ЦНС достоверных изменений в динамике СПП не обнаружено. Исследование проведено через 30 мин, 2 и 24 ч после введения продукта.

Многочисленные кожные аппликации продукта не вызвали у подопытных животных изменений поведенческих реакций и функций выделительной системы в течение всего периода исследований. Уровни кетонов, белка, удельный вес и рН мочи у животных из опытной и контрольной групп статистически не отличались. Однотипными на всем промежутке исследования были и значения СПП.

При исследовании биохимических показателей крови после девяти кожных аппликаций в ответ на кожно-раздражающее действие, у подопытных животных в сравнении с контрольными, отмечали статистически достоверную реакцию на данный химический раздражитель.

При оценке кожно-резорбтивного действия

достоверных изменений со стороны кожного покрова хвостов лабораторных животных и динамики физиологических показателей нами отмечено не было.

Исследование действия вещества на слизистую оболочку глаза (сразу после введения вещества, через 1 ч, через сутки) показало наличие его слабовыраженного действия: после внесения вещества в конъюнктивальный мешок глаза отмечено минимальное количество выделений в углу глазной щели (1 балл), слабый отек век (1 балл). На следующий день на слизистой опытного глаза отмечена инъекция сосудов (1 балл). Данные изменения приняли обратимый характер к концу периода наблюдения (в течение недели).

Параллельно классической схеме исследования токсических свойств химического соединения мы провели дополнительное исследование на предмет изучения его кумулятивных свойств путем совмещения способов затравки: пероральной и кожной, используя схему дробной факторизации.

В результате дробной факторизации и совмещения (по ее схеме) пероральной и кожной схем введения животному исследуемого вещества в нативном виде мы обнаружили, что продукт,

первоначально отнесенный к четвертому классу опасности, при дробном введении (при прежних затравочных дозах) вызывает 100% гибель животных. Снижение затравочных доз в два раза вызвало гибель только 30% животных. Выраженными, статистически достоверными были реакции со стороны крови подопытных животных, причем они были полностью идентичны показателям, полученным по прежней, полной схеме эксперимента.

Когда дозы одномоментно введенного вещества были уменьшены в четыре раза по сравнению с полным факторным экспериментом – гибель животных прекратилась, нормализовались реакции со стороны крови подопытных животных.

Исследуемое нами по классической схеме токсикологического эксперимента химическое соединение «Оксиам» может быть отнесено к четвертому классу опасности.

В случае совмещения способов воздействия «Оксиама» может наблюдаться эффект кумуляции, который повышает его класс опасности, что требует более углубленного исследования токсичности данного соединения.

Материал поступил в редакцию 13.11.06.

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Алкогольная и наркотическая зависимость у подростков: Пути преодоления: Учеб. пособие для вузов / Под ред. З.Ф.Вагнера, Х.Б.Уолдрон; Пер. с англ. – М.: Изд. центр «Академия», 2006. – 476 с. 3000 экз.

Анализы. Полный справочник / Г.Р.Колоколов и др. – М.: Эксмо, 2006. – 768 с. 4000 экз.

Биологическая безопасность / Г.Г.Онищенко и др. – М.: Медицина, 2006. – 304 с. 1000 экз.

Виноградов В.М., Каткова Е.Б., Мухин Е.А. Фармакология с рецептурой: Учебник для мед. и фармацевт. уч-щ и колледжей. – 4-е изд., испр. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 864 с. 5000 экз.

Ганиев М.М., Недорезков В.Д. Химические средства защиты растений: Учеб. пособие для вузов. – М.: КолосС, 2006. – 248 с. -(Учебники и учеб. пособия для студ. высш. учеб. заведений). 1500 экз.

Диоксины и здоровье человека: Науч. основы выявления диоксиновой патологии / С.П.Позняков и др. – СПб.: Наука, 2006. – 274 с. 1000 экз.

Калыгин В.Г., Бондарь В.А., Дедеян Р.Я. Безопасность жизнедеятельности: Пром. и эколог. безопасность, безопасность в техногенных чрез-

вычайных ситуациях: Курс лекций: Учеб. пособие / Под общ. ред. В.Г.Кальгина. – М.: Химия, КолосС, 2006. – 520 с. -(Учебники и учеб. пособия для студ. высш. учеб. заведений, для высш. школы). 2000 экз.

Неклюдов Ю.А. Судебная медицина: Справочник / Под ред. В.В.Козлова. – М.: Дрофа, 2007. – 608 с. – (Высш. образование). 3000 экз.

Нужный В.П., Рожанец В.В., Ефремов А.П. Лекарственные растения и фитокомпозиции в наркологии. – М.: КомКнига, 2006. – 512 с.

Руководство до скорой медицинской помощи: С прил. на компакт-диске / Глав. ред. С.Ф.Багненко и др. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 816 с. 10000 экз.

Специфическая индикация патогенных биологических агентов: Практ. руководство / Под ред. Г.Г.Онищенко. – М.: МП Гигиена, 2006. – 288 с. 1000 экз.

Харкевич Д.А. Фармакология: Учебник для вузов. – 9-е изд., перераб., доп., испр. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 736 с: ил. 7000 экз.

К.К.Сидоров, А.А.Виноградова

ИНФОРМАЦИЯ

ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора извещает о том, что в январе-феврале 2007 г. закончился срок действия государственной регистрации следующих веществ

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации	Дата окончания срока госрегистрации
1	[(2-Гидрокси-1,3-пропандиил)динитрило]тетрауксусная кислота $C_{11}H_{18}N_2O_9$	3148-72-9	N,N'-(2-Гидрокси-1,3-пропандиил)бис(N-карбоксиметил)глицин, 1,3-диаминопропанолтетрауксусная кислота, ДПТУ, Nervanaid K (Anti Cal N3, DPTA)	ВТ 001103	04.02.07
2	[(1,3-Пропандиил)динитрило]тетрауксусная кислота $C_{11}H_{18}N_2O_8$	1939-36-2	N,N'-1,3-Пропандиилбис(N-карбоксиметил)глицин, (пропилендинитрило)тетрауксусная кислота, 1,3-пропилендиаминтетрауксусная кислота, 1,3-ПДТУ, 1,3-PDTA, Dissolvine PDZ	ВТ 001104	04.02.07
3	α -Алкил- C_{10-16} - ω -гидроксиполи(окси-1,2-этандиил)сульфат натрия $C_{10-16}H_{21-33}NaO_4S[C_2H_4O]_n$	68585-34-2	Алкил- C_{10-16} -этоксисульфат натрия, α -сульфо- ω -гидроксиполи(окси-1,2-этандиил) C_{10-16} -алкиловых эфиров натрия соль, алкил- C_{10-16} -полиоксиэтиленсульфат натрия; входит в состав продукта Эмпикол (Empicol) ESC 3	ВТ 001111	24.02.07
4	4-Аминобензолсульфонат натрия $C_6H_6NNaO_3S$	515-74-2	Анилин-4-сульфокислоты натрия соль, п-аминобензолсульфокислоты натрия соль, сульфанилат натрия	ВТ 001309	02.02.07
5	2-[(3-Амино-4-метоксифенил)сульфонил]этанолгидросульфат $C_9H_{13}NO_7S_2$	10079-20-6	4- β -Оксиэтилсульфонил-о-анизидин сернокислый эфир, 4-бета-оксиэтилсульфонил-2-аминоанизол сернокислый эфир	ВТ 001913	08.02.07
6	Тантал пентагидроксид H_5O_5Ta	25320-22-3	Тантал гидроокись, тантал гидроксид	АТ 002563	09.01.07
7	1,3-Бензодиоксол-5-карбоксальдегид $C_8H_6O_3$	120-57-0	Метиленовый эфир протокатехового альдегида, 3,4-метилендиоксибензальдегид, 5-формил-1,3-бензодиоксол, пиперониальдегид, гелиотропин, пиперональ, пиперонал	ВТ 002564	14.01.07
8	4-[[4-[[2-Метил-4-[[4-метилфенил]сульфонил]окси]фенил]азо]фенил]амино]-3-нитробензолсульфонат натрия $C_{26}H_{21}N_4NaO_8S_2$	12220-06-3	Краситель органический кислотный желтый СВ 4К, С.І.14172, кислотный оранжевый 67	ВТ 002565	20.01.07
9	N-Децил-N,N-диметилдеканаминхлорид $C_{22}H_{48}ClN$	7173-51-5	Дидецилдиметиламмоний хлорид, диметилдидециламмоний хлорид; входит в состав средства Пентол В200 (Pentol V200)	ВТ 002566	20.01.07
10	6-Амино-4-гидрокси-5-[(2-трифторметил)фенил]азо]нафталин-2-сульфонат натрия $C_{17}H_{11}F_3N_3NaO_4S$	67786-14-5	5-[(2-Трифторметилфенил)азо]-4-гидрокси-6-аминонафталин-2-сульфоновой кислоты моносодовая соль, краситель органический кислотный красный СВЖ 200%; С.І.17102; кислотный красный 337	ВТ 002567	22.01.07

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации	Дата окончания срока госрегистрации
11	Полиалкил-С ₁₂ -глюкопиранозид-сульфосукцинат динатрия [C ₂₂ H ₃₉ Na ₂ O ₁₃ S] _n	151911-53-4	Додецилполиглюкопиранозидсульфосукцинат динатрия; алкил-С ₁₂ -полиглюкозидсульфосукцинат динатрия; входит в состав продукта Safe-Surf WN	ВТ 002568	23.01.07
12	Полиалкил-С ₁₀₋₁₆ -D-глюкопиранозид [C ₁₆₋₂₂ H ₃₁₋₄₃ O ₆] _n	110615-47-9	Полимер алкил-С ₁₀₋₁₆ -D-глюкопираноза, алкил-С ₁₀₋₁₆ -полиглюкозид; входит в состав Safe-Surf WN	ВТ 002570	26.01.07
13	Бис[(α-1-оксооктадецил)-ω-гидроксиполи(окси-1,2-этандинил)]-фосфат калия C ₃₆ H ₇₀ KO ₆ P(C ₂ H ₄ O) _{2n}		Моностеаратполиэтиленгликолевый диэфир фосфорной кислоты калиевая соль; входит в состав фосфат стеарата ПЭГ-400	ВТ 002571	02.02.07
14	α-1-Оксооктадецил-ω-гидроксиполи(окси-1,2-этандинил)фосфат дикалия C ₁₈ H ₃₅ K ₂ O ₆ P(C ₂ H ₄ O) _n		Моностеаратполиэтиленгликолевый эфир фосфорной кислоты дикалиевая соль; входит в состав фосфат стеарата ПЭГ-400	ВТ 002572	02.02.07
15	Полимер проп-2-еновой кислоты с α-проп-2-ен-ω-гидроксиполи(окси-1,2-этандинил) и 2-гидрокси-3-(проп-2-енилокси)-1-пропансульфонатом натрия [[C ₃ H ₄ O ₂] _l [C ₃ H ₇ O(C ₂ H ₄ O) _y] _m · [C ₆ H ₁₁ NaO ₃ S] _n] _x	175779-62-1	Полимер акриловой кислоты с аллиловым эфиром полиэтиленгликоля и аллилоксигидроксипропилсульфонатом натрия	ВТ002573	03.02.07
16	4-[[4-[(4-Гидрокси-2-метилфенил)азо]фенил]амино]-3-нитробензолсульфонат натрия C ₁₉ H ₁₅ N ₄ NaO ₆ S	61931-26-8	4-[[[(4-Гидрокси-2-метилфенил)азо](4-фениламино)]-3-нитробензолсульфонат натрия, краситель органический кислотный желтый СВ 5К, С.І.14205, кислотный желтый 199	ВТ 002574	03.02.07
17	Додекан-1-ол C ₁₂ H ₂₆ O	112-53-8	Додециловый спирт, 1-гидроксидодекан, лауриловый спирт, n-додеканол, 1-додеканол; входит в состав продукта IDLUBE	ВТ 002576	03.02.07
18	Тетрадекан-1-ол C ₁₄ H ₃₀ O	112-72-1	1-Тетрадециловый спирт, миристиловый спирт, n-тетрадециловый спирт, 1-тетрадеканол; входит в состав продукта IDLUBE	ВТ 002577	03.02.07
19	[[N,N'-1,2-Этандинилбис[N-(карбоксиметил)глицинат]](4-)-N,N',-O,O',O ^N ,O ^{N'}]гидроксиферрат(2-) диаммоний[ОС-6-21] C ₁₀ H ₂₁ FeN ₄ O ₉	68413-60-5	Этилендиаминотетраацетата диаммония гидроксиджелезный комплекс, этилендиаминтетрауксусной кислоты диаммоний гидроксиджелезо	ВТ 002578	05.02.07
20	N ⁴ , N ⁴ -Диэтил-2-метил-1,4-бензолдиамин моногидрохлорид C ₁₁ H ₁₉ ClN ₂	2051-79-8	N ⁵ , N ⁵ -Диэтил-2,5-диаминотолуол гидрохлорид, N,N-диэтил-3-метилпара-фенилендиамин моногидрохлорид, Kodak Color Developing Agent CD-2 (проявитель для цветной фотографии), PCD 12405	ВТ 002579	05.02.07
21	5-[[4-(Диметиламин)фенил]азо]-N,N-бис(1-метилэтил)-1,3,4-тиадиазол-2-амин C ₁₄ H ₂₄ N ₆ S	81921-75-7	2-Диизопропиламин-5-((4-диметиламинфенил)азо)-1,3,4-тиадиазол, 5-бис[(1-метилэтил)амин]-2-[[4-(диметиламин)фенил]азо]-1,3,4-тиадиазол, моноазокраситель 5-диизопропиламин-2-[[4-(диметиламин)фенил]азо]-1,3,4-тиадиазол	ВТ 002580	10.02.07

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации	Дата окончания срока госрегистрации
22	Диацетат кальция $C_4H_6CaO_4$	62-54-4	Уксуснокислый кальций, уксусной кислоты кальциевая соль, ацетат кальция	ВТ 002582	18.02.07
23	Диацетат магния $C_4H_6MgO_4$	142-72-3	Уксусной кислоты магниевая соль, уксуснокислый магний, ацетат магния	ВТ 002583	18.02.07
24	Доломит C_2CaMgO_6	16389-88-1	Доломит, мука известняковая (доломитовая)	АТ 002584	19.02.07
25	Полимер циангуанидина с метаналем $[[C_2H_4N_4]_m[CH_2O]_n]_x$	25591-12-8	Смола дициандиамидаформальдегидная, продукт поликонденсации дициандиамида с формальдегидом, продукт поликонденсации дициандиамина с формальдегидом, полимер циангуанидина с формальдегидом, сополимер дициандиамида с формальдегидом; входит в состав BIOFIX 110	ВТ 002585	19.02.07
26	Алюминий нитрид кремний оксид		Сиалон (бета) СВС	АТ 002586	24.02.07
27	Канифоль эфир с 2,2-бис(гидроксиметил)пропан-1,3-диол	8050-26-8	Эфир смоляных кислот канифоли с пентаэритритолом, канифоль талловая модифицированная пентаэритритом, эфир смоляных кислот канифоли с пентаэритритом, Пентанокс	ВТ 002589	25.02.07
28	Полимер проп-2-енамида с проп-2-еновой кислотой $[[C_3H_5NO]_m[C_3H_4O_2]_n]_x$	9003-06-9	Сополимер акриламида с акриловой кислотой, продукт Суран М (Сайпан М), Cydri 4000, 5300 (Сайдрил 4000 и 5300)	ВТ 002591	27.02.07

Производство и применение перечисленных веществ возможно только после их перерегистрации.

**ПЕРЕЧЕНЬ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ,
ПРОШЕДШИХ ГОСУДАРСТВЕННУЮ РЕГИСТРАЦИЮ
(печатается с продолжением, сообщение № 73*)**

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос. регистрации Номер РПОХБВ	Дата регистрации	Срок действия регистрации
1	Алкил C_{10-13} (производные)бензола $C_{16}H_{26}-C_{19}H_{32}$	67774-74-7	Фенилалканы C_{10-13} (производные); входит в состав Opti Fluor	77.99.26.8.У. 12901.11.06 ВТ 002842	28.11.06	временно до 24.07.09
2	2-Гидроксипропан-1,2,3-трикарбонат трикалия моногидрат $C_6H_3K_3O_7 \cdot H_2O$	6100-05-6	Лимоннокислый калий трехзамещенный моногидрат; лимонной кислоты трикалиевая соль моногидрат; цитрат трикалия моногидрат; входит в состав продукта Part 1 to Two Part Reagent Kit	77.99.26.8.У. 12903.11.06 ВТ 002840	28.11.06	временно до 24.07.09

* Начало в № 4 за 1994 г.

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос. регистрации Номер РПОХБВ	Дата регистрации	Срок действия регистрации
3	3,8-Диамино-5-этил-6-фенилфенантридиний-бромид $C_{21}H_{20}BrN_3$	1239-45-8	2,7-Диамино-10-этил-9-фенилфенантридинийбромид; Этидиум бромид; Этидиум бромид (водный раствор); Гомидиум бромид; Glocount TM; Glocount TM (водный раствор); входит в состав Glocount tablets	77.99.26.8.У. 12902.11.06 ВТ 002843	28.11.06	временно до 24.07.09
4	2-Метилбут-2-ен C_5H_{10}	513-35-9	β -Изоамилен; 2-метил-2-бутен; 1,1,2-триметилэтилен; триметилэтилен	77.99.26.8.У. 10396.10.06 ВТ 002474	05.10.06	временно до 02.07.09
5	Поли(окси-1,2-этандинил-оксикарбонил-1,4-фениленкарбонил) $[C_{10}H_8O_4]_n$	25038-59-9	Полиоксиэтилентерефталат; полиэфир терефталевой кислоты и 1,2-этандиола; полиэтиленгликольтерефталат; полиэтилентерефталат; Лавсан; Клеартуф P82	77.99.26.8.У. 12904.11.06 ВТ 002837	28.11.06	постоянно
6	Полимер β -Д-фруктофуранозил- α -Д-глюкопиранозид с пропан-1,2,3-триолом и метилоксираном $[[C_{12}H_{22}O_{11}]_l[C_3H_8O_3]_m \cdot [C_3H_6O]_n]_x$	79643-08-6	Полиэфир сахарозы, глицерина и окиси пропилена, полиэфир СГ-500	77.99.26.8.У. 11058.10.06 ВТ 002833	19.10.06	временно до 12.07.09
7	Сернистый зеленый 9	1326-39-2	Продукт взаимодействия 1,3-динитробензола с 4-аминофенолом и серой; краситель органический сернистый хаки; C.I.Sulfur Green 9; C.I.53005	77.99.26.8.У. 10597.10.06 ВТ 002819	11.10.06	постоянно

**4th International Symposium
of Computational Methods
in Toxicology and Pharmacology
Integrating Internet Resources (CMTPI-2007)**

September 1-5, 2007, Moscow, Russia

Updated information

<http://www.ivtn.ru/cmtpi-2007>

**Ms. Paulina Gabusu,
Secretary General, CMTPI-2007**

NC Group/NVK «VIST»
Vavilova Street, 24, Block 4
Moscow, 119334, Russia
Tel.: +007 495 995-80-17
Fax: +007 495 975-18-46
E-mail: paulina@ncgroup.ru