

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Toxicological Review*



Научно-практический журнал  
Издается с июля 1993 года, выходит 1 раз в 2 месяца

№ 4 (145), 2017

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

**В.А. Горичный, Д.Ю. Сердюков, А.В. Язенок, А.В. Носов, Г.Г. Загородников, Д.Ю. Лазаренко, С.Л. Ветошкин**  
ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ НАЧАЛЬНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ АТЕРОГЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ У ПЕРСОНАЛА ХИМИЧЕСКИ ОПАСНЫХ ОБЪЕКТОВ.....2

**Н.Г. Венгерович, М.А. Юдин, М.С. Вахвьяйнен, О.О. Владимирова, И.И. Алексева, О.И. Алешина**  
ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ КОМБИНАЦИИ ФЕНТАНИЛА И ДЕКМЕДЕТОМИДИНА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.....8

**И.А. Минигалиева, Б.А. Кацнельсон, В.Б. Гурвич, Л.И. Привалова, В.Г. Панов, А.Н. Вараксин, М.П. Сутункова**  
О СООТНОШЕНИИ МЕЖДУ ОБЩЕПРИНЯТОЙ ПРАКТИКОЙ ОЦЕНКИ РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ПРИ ПОЛИМЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЭКСПОЗИЦИЯХ И ТЕОРИЕЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ ..... 13

**А.С. Радилов, И.Е. Шкаева, Х.Х. Хамидулина, С.А. Солнцева, О.С. Никулина, А.И. Николаев, В.Б. Попов, Г.А. Протасова**  
ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ СМЕСИ ПРЕДЕЛЬНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ..... 19

**К.И. Усов, Т.А. Гуськова, Г.Г. Юшков, А. В.Машанов, А.А. Гущина**  
ВЛИЯНИЕ ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИХ РИТМОВ НА ТОКСИЧНОСТЬ ИЗОНИАЗИДА И РИФАМПИЦИНА ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ПРИМЕНЕНИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА НА КРЫСАХ..... 24

**О.В. Бударина, М.А. Пинигин, Л.А. Федотова, З.Ф. Сабирова, Т.Д. Потапченко**  
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОБОСНОВАНИЮ ДОПУСТИМОГО СОДЕРЖАНИЯ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ ВЕЩЕСТВ, ОБЛАДАЮЩИХ ЗАПАХОМ. 34

**М.А. Тюнин, С.В. Чепур, А.С. Гоголевский, Д.В. Селиванов, Н.И. Бурцева, Н.С. Ильинский**  
ПРОБЛЕМА ПРОМЕЖУТОЧНОГО СИНДРОМА ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ..... 40

#### □ Экологическая токсикология

**А. А. Асанова, В.И. Полонский, Ю. С. Григорьев**  
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ТЕХНОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОДОРОСЛИ CHLORELLA VULGARIS..... 50

□ Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам..... 55

**V.A. Gorichny, D. Yu. Serdukov, A.V. Yazenok, A.V. Nosov, G.G. Zagorodnikov, D. Yu. Lazarenko, S.L. Vetoshkin**  
RISK FACTORS FOR THE DEVELOPMENT OF INITIAL MANIFESTATIONS OF ATHEROGENIC CARDIOVASCULAR DISEASES IN PERSONNEL OF CHEMICALLY HAZARDOUS FACILITIES.....2

**N.G. Vengerovich, M.A. Yudin, M.S. Vakhviyajnen, O.O. Vladimirova, I.I. Alekseeva, O.I. Aleshina**  
SAFETY STUDY OF FENTANYL AND DEXMEDETOMIDINE COMBINATION ON AN EXPERIMENTAL MODEL OF IMPAIRED CARDIAC FUNCTION.....8

**I.A. Minigalieva, B.A. Katsnelson, V.B. Gurvich, L.I. Privalova, V.G. Panov, A.N. Varaksin, M.P. Sutunkova**  
CONCERNING COORDINATION BETWEEN THE GENERALLY ACCEPTED PRACTICE OF ASSESSING HEALTH RISKS DUE TO MULTI-METALLIC EXPOSURES AND THE THEORY OF COMBINED TOXICITY..... 13

**A.S. Radilov, I.E. Shkaeva, Kh.Kh. Khamidulina, S.A. Soltseva, O.S. Nikulina, A.I. Nikolaev, V.B. Popov, G.A. Protasova**  
TOXICITY ASSESSMENT AND EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF HYGIENE REGULATORY STANDARDS FOR THE MIXTURE OF C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> SATURATED HYDROCARBONS IN THE ATMOSPHERIC AIR OF RESIDENTIAL AREAS ..... 19

**K.I. Usov, T.A. Guskova, G.G. Yushkov, A.V. Mashanov, A.A. Gushchina**  
THE INFLUENCE OF CHRONOBIOLOGICAL RHYTHMS ON TOXICITY OF ISONIAZID AND RIFAMPICIN COMBINATION UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS IN RATS ..... 24

**O.V. Bударina, M.A. Pinigin, L.A. Fedotova, Z.F. Sabirova, T.D. Potapchenko**  
MODERN METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE PERMISSIBLE CONTENT OF ODOROUS SUBSTANCES IN THE AMBIENT AIR ..... 34

**M.A. Tyunin, S.V. Chepur, A.S. Gogolevsky, D.V. Selivanov, N.I. Burtseva, N.S. Ilyinskiy**  
THE PROBLEM OF THE INTERMEDIATE SYNDROME FOLLOWING POISONING WITH ANTI-CHOLINESTERASE AGENTS ..... 40

#### □ Ecotoxicology

**A.A. Asanova, V.I. Polonskiy, Y.S. Grigoriev**  
TOXICITY ASSESSMENT OF ENGINEERED NANOPARTICLES USING ALGAE CHLORELLA VULGARIS..... 50

□ New publications on toxicology and related disciplines ..... 55

УДК 547.1 : 615.9 : 616.005

# ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ НАЧАЛЬНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ АТЕРОГЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ У ПЕРСОНАЛА ХИМИЧЕСКИ ОПАСНЫХ ОБЪЕКТОВ

*В.А. Горичный<sup>1</sup>, Д.Ю. Сердюков<sup>1</sup>,  
А.В. Язенок<sup>1</sup>, А.В. Носов<sup>2</sup>,  
Г.Г. Загородников<sup>1</sup>, Д.Ю. Лазаренко<sup>1</sup>,  
С.Л. Ветошкин<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБУН Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России, 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup>ФБУ Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия, 119160, г. Москва, Российская Федерация

**П**роведено амбулаторное обследование 530 сотрудников химически опасных объектов, занятых на работах с химическим оружием, относящегося к фосфорорганическим соединениям. Изучены факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний атерогенной этиологии у персонала объектов в зависимости от вида (характера) выполняемых работ с использованием методов статистического анализа. При оценке липидограммы была выявлена высокая частота атерогенной дислипидемии в группе персонала объектов, занятого хранением химического оружия, в сравнении с группой лиц, занятых уничтожением химического оружия, и контролем (73,1 vs 61,2 vs 59,6%,  $p < 0,05$ ), а также повышение в данной группе уровня липопротеидов низкой плотности (4,2 [3,9–4,5] vs 3,8 [3,6–4,0] vs 3,9 [3,7–4,0] ммоль/л,  $p < 0,05$ ). Разработана математическая модель развития атерогенной дислипидемии у молодых мужчин-сотрудников химически опасных объектов на основании показателей артериального давления, алиментарного статуса и характера выполняемой ими профессиональной деятельности. Вид контакта с фосфорорганическими соединениями может быть рассмотрен в качестве дополнительного (независимого) фактора риска развития патологии атерогенной природы. На развитие атерогенной дислипидемии у сотрудников химически опасных объектов молодого возраста существенное влияние оказывают вид контакта с отравляющим веществом, висцеральное ожирение и повышение артериального давления. Контакт с фосфорорганическими соединениями необходимо рассматривать в качестве независимого (дополнительного) фактора риска заболеваний, обусловленных атеросклерозом, учитывать и максимально нивелировать при их первичной профилактике.

**Ключевые слова:** факторы риска; атеросклероз; атерогенная патология; химически опасные объекты; химическое оружие; длительность контакта с отравляющими веществами; фосфорорганические соединения; артериальная гипертензия; дислипидемия; висцеральное ожирение.

**Введение.** В большинстве стран мира сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются актуальной социально-значимой проблемой. Их

широкое распространение на земле привело к тому, что в начале XXI века стали говорить о пандемии ССЗ в мире. В Российской Федерации (РФ),

**Горичный Виктор Александрович (Gorichnyi Victor Aleksandrovich)**, к.м.н., майор медицинской службы, начальник НИЛ НИО НИЦ ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, garik1501@mail.ru

**Сердюков Дмитрий Юрьевич (Serdukov Dmitriy Yurievich)**, докторант кафедры госпитальной терапии, к.м.н., майор медицинской службы ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, serdukovdu@yandex.ru

**Язенок Аркадий Витальевич (Yazenok Arkadyi Vitalievich)**, доцент кафедры военно-полевой терапии, д.м.н., полковник медицинской службы ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, arkyazenok@yandex.ru

**Носов Андрей Викторович (Nosov Andrei Victorovich)**, д.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник ФГБУН Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России, 192019, г. Санкт-Петербург, institute@toxicology.ru

**Загородников Геннадий Геннадьевич (Zagorodnikov Gennadiy Gennadievich)**, д.м.н., полковник медицинской службы, начальник НИО НИЦ ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, gen73zag@mail.ru

**Лазаренко Диана Юрьевна (Lazarenko Diana Yurievna)**, к.м.н., с.н.с. НИЛ НИО НИЦ академии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России, 194044, г. Санкт-Петербург, ldianka@yandex.ru

**Ветошкин Сергей Леонидович (Vetoshkin Sergei Leonidovich)**, заместитель начальника отдела, полковник медицинской службы ФБУ Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия, 119160, г. Москва, doctor\_nms@mail.ru

несмотря на некоторую тенденцию к снижению, все еще сохраняется высокая смертность от ССЗ, особенно среди лиц трудоспособного возраста, которая на 60 % зависит от распространенности в популяции факторов риска (ФР) [1 – 3]. Как правило, основной причиной развития большинства ССЗ является атеросклероз. Концепция изучения сердечно-сосудистой патологии атеросклеротического генеза в медицине труда основана на выявлении причинно-следственных связей между отрицательными факторами, возникающими в процессе производства, и теми или иными ССЗ [4].

В последние годы внимание научной общественности стала привлекать связь воздействия химических факторов, присутствующих на производствах, а также в воздухе окружающей среды обитания с ССЗ [4, 5]. Среди промышленных предприятий, где существует опасность токсического действия химических веществ, особое место занимают объекты по хранению и уничтожению химического оружия [5]. С 2002 года в соответствии с рядом законов, указов Президента и постановлений Правительства в РФ ведутся работы по уничтожению химического оружия (ХО). Минимизация риска воздействия на здоровье человека и окружающую среду химической продукции на всех стадиях ее жизненного цикла лежит в основе формирования системы рационального использования и оптимизации процессов обращения токсичных химикатов на национальном, региональном и международном уровнях [6].

Наряду с такими классическими ФР ССЗ, как мужской пол, возраст, артериальная гипертензия (АГ), наследственная предрасположенность, дислипидемия (ДЛП), ожирение, гиподинамия, табакокурение и злоупотребление алкоголем, психоэмоциональный стресс, на работников химически опасных объектов (ХОО) воздействует дополнительные факторы труда, что в ряде случаев позволяет рассматривать эту группу заболеваний в качестве профессионально обусловленных. В частности, в процессе многолетних исследований у данной категории установлен факт более раннего развития ССЗ атерогенной природы [7, 8]. Авторы связывают это с воздействием на работников сложного комплекса вредных факторов рабочей среды и трудового процесса, включающего повышенную напряженность труда вследствие технологического процесса производства, высокую личную ответственность, а также широкий спектр вредных химических веществ, из которых наибольшую опасность для здоровья людей при соответствующих условиях (концентрации и длительности воздействия) могут представлять: ФОС, оксид свинца, марганец, оксид хрома, оксиды азота, фторид натрия, серный

ангидрит, фтористый водород, оксид марганца, диоксид серы, сварочный аэрозоль, монооксид углерода и др. [4, 9]. Установлено, что развитие нарушений ритма сердца может быть связано с действием мышьяка, хлоруглеродов, ФОС. Длительный контакт с дисульфидом и окисью углерода, свинца, арсина и мышьяка ассоциирован с ранним возникновением ИБС и повреждением миокарда [9, 10]. По данным ряда научных исследований у персонала ХОО выявлены ранние сроки формирования и широкая распространенность АГ и ИБС [8, 11].

При анализе представленных литературных источников обращает на себя внимание тот факт, что данные исследования посвящены сформировавшимся при совокупном влиянии ФР и промышленных вредностей ССЗ, при которых актуальны мероприятия лишь вторичной профилактики. Рассматриваются новые алгоритмы диагностики субклинических атеросклеротических изменений у молодых мужчин [12, 13]. Вместе с тем информация о ФР у лиц без выраженных изменений системы кровообращения, работа которых связана с токсическими химикатами, практически отсутствует, что обуславливает актуальность представленного нами исследования.

*Цель исследования:* Изучить факторы риска и разработать математическую модель развития атерогенной дислипидемии у персонала химически опасных объектов.

**Материалы и методы исследования.** Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской Декларации. На базе медицинских пунктов ХОО сотрудниками Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова было проведено углубленное обследование 530 мужчин в возрасте 30–45 лет, занятых на работах по хранению и уничтожению ХО, относящегося к ФОС. Углубленный медицинский осмотр включал себя оценку жалоб, анамнеза заболеваний и вредных привычек, антропометрию с определением индекса массы тела (ИМТ) и окружности талии (ОТ), офисное измерение систолического и диастолического артериального давления (САД и ДАД), биохимическое исследование крови (липидный спектр: общий холестерин, липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), низкой плотности (ЛПНП), очень низкой плотности (ЛПОНП), триглицериды (ТГЛ); глюкоза, амилаза, общий билирубин, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП), креатинин с расчетом скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле MDRD-EPI). Риск сердечно-сосудистых событий (осложнений) с учетом молодого

возраста обследуемых определялся по Фрамингемской шкале [14]. В диагностический алгоритм входили такие параметры, как пол, возраст, наличие АГ и сахарного диабета 2 типа, курение.

Обследованный контингент был разделен на 3 группы в зависимости от вида (характера) выполняемых работ и степени их опасности. Первую группу составили 104 человека (19,5%), имеющих контакт с ФОС в связи с обслуживанием арсеналов хранения ХО. Вторую группу составили 206 человек (39%), имеющих контакт с ФОС и работающих на заводах по уничтожению ХО. Третья группа (контрольная) включала 220 человек (41,5%) охраны ХОО (химически интактные). Все группы были сопоставимы между собой по возрасту обследованных и стажу работы с ХО. Алиментарный статус в группах был одинаков ( $p>0,05$ ) (табл. 1).

Все участники исследования давали информированное согласие; не включались пациенты с поражением органов-мишеней и ассоциированными клиническими состояниями, инфекционными заболеваниями печени, сахарным диабетом 2 типа.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 10 For Windows. При сравнении распределений количественных показате-

телей в группах использовались методы параметрического анализа (дисперсионный анализ, дискриминантный анализ). Проверка гипотезы о происхождении групп, сформированных по качественному признаку, проводилась на основе построения таблиц сопряженности наблюдаемых и ожидаемых частот; применялся критерий Хи-квадрат Пирсона (<sup>2</sup>). При проверке распределения количественных признаков по Колмогорову-Смирнову и соответствию их закону нормального распределения представлялось среднее значение признака (М) и 95% доверительный интервал [95% ДИ].

**Результаты и обсуждение.** У мужчин 1-й группы при большем стаже работы (табл. 1) на ХОО ( $p<0,001$ ) отмечались более высокие значения САД и ДАД по сравнению с контролем ( $p=0,08$  и  $0,028$  соответственно) и общей частоты АГ ( $p>0,05$ ). Табакокурение оказалось более часто встречаемым во 2-й и контрольной группах ( $p<0,001$ ).

Для обследуемых 1-й группы были характерны повышенные значения общего холестерина и ДЛП ( $p<0,05$ ), преимущественно за счет фракции низкой плотности в сравнении со 2-й группой ( $p=0,04$ ). По остальным параметрам липидограммы значимых межгрупповых различий не наблюдалось (табл. 2).

Таблица 1

**Клинические и анамнестические показатели в группах, (М [95 ДИ%] для количественных признаков)**

Показатель	1-я группа (n=104)	2-я группа (n=206)	Контроль (n=220)
1	2	3	4
Возраст, лет	37,5 [36,5-38,5]	34,5 [33,9-35,1]	35,5 [34,9-36,1]
Стаж работы с химическим оружием, лет	10,6 [9,6-11,6]	7,6 [6,8-8,3]	6,9 [6,1-7,7]**/##
Уровень офисного систолического артериального давления, мм рт. ст.	125,1 [122,6-127,6]	123,2 [121,5-124,7]	122,2 [120,9-123,4]
Уровень офисного диастолического давления, мм рт. ст.	81,5 [79,5-83,6]	80,0 [78,5-81,2]	78,6 [77,6-79,5]*
Распространенность артериальной гипертензии, %	32,7 (34)	27 (56)	24,1 (53)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	25,8 [25,1-26,4]	26,1 [25,7-26,6]	26,1 [25,7-26,6]
Окружность талии, см	89,1 [86,4-91,8]	91,2 [88,5-93,9]	90,9 [88,2-93,5]
Ожирение, % (чел.)	25 (26)	29 (60)	30 (67)
Курение, % (чел.)	41 (42)	57 (116)**	60 (132)**

Примечание: \*/# – уровень значимости  $p<0,05$ ; \*\*/## –  $p<0,001$ . В 3-м столбце различия между 1-й и 2-й группами; в 4-м \* – различия между 1-й группой и контролем, # – между 2-й группой и контролем.

Таблица 2

**Параметры липидного обмена в группах, (М [95 ДИ] для количественных признаков)**

Показатель	1-я группа	2-я группа	Контроль
1	2	3	4
Общий холестерин, ммоль/л	6,0 [5,6–6,3]	5,6 [5,4–5,8]	5,8 [5,6–5,9]
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	1,2 [1,1–1,2]	1,1 [1,1–1,2]	1,1 [1,1–1,2]
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	4,2 [3,9–4,5]	3,8 [3,6–4,0]*	3,9 [3,7–4,0]
Липопротеиды очень низкой плотности, ммоль/л	0,6 [0,5–0,7]	0,6 [0,6–0,7]	0,7 [0,7–0,8]
Триглицериды, ммоль/л	1,3 [1,2–1,5]	1,4 [1,3–1,6]	1,6 [1,4–1,8]
Коэффициент атерогенности	4,6 [4,1–5,0]	4,2 [4,0–4,5]	4,4 [4,2–4,7]
Дислипидемия, % (чел.)	73,1 (76)	61,2 (126)*	59,6 (131)*

Примечание: \* – уровень значимости  $p < 0,05$ . В 3-м столбце различия между 1-й и 2-й группами; в 4-м \* – различия между 1-й группой и контролем.

Таблица 3

**Дополнительные биохимические показатели в группах обследуемых, (М [95 ДИ])**

Показатель	1-я группа	2-я группа	Контроль
1	2	3	4
Амилаза, ммоль/л	60,9 [56,9–64,8]	59,2 [56,6–61,8]	59,0 [55,9–62,1]
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	22,5 [19,7–25,3]	21,5 [19,2–23,8]	21,1 [19,1–23,1]
Аспаратаминотрансфераза, Ед/л	30,2 [27,2–33,2]	31,8 [29,3–34,3]	31,5 [29,4–33,6]
Общий билирубин, мкмоль/л	13,7 [12,4–15,0]	13,1 [12,1–14,0]	12,3 [11,6–13,1]
Гамма-глутамилтранспептидаза, ммоль/л	39,8 [33,2–46,5]	34,0 [29,9–38,0]*	39,6 [30,2–48,9]*
Креатинин, мкмоль/л	102,2 [99,3–105,2]	102,0 [99,8–104,2]	102,0 [99,8–104,2]
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин	82,4 [78,4–86,4]	84,6 [82,5–86,7]	84,8 [82,6–87,1]

Примечание: \* – уровень значимости  $p < 0,05$ . В 3-м столбце различия между 1-й и 2-й группами; в 4-м \* – различия между 1-й группой и контролем.

Для исключения возможного поражения поджелудочной железы, печени и почек был проанализирован ряд дополнительных параметров (табл. 3), которые у всех обследуемых оказались в пределах нормы без значимых межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ).

Прогнозируемый риск сердечно-сосудистых осложнений по Фрамингемской шкале в 1-й группе составил 7%, достоверно превышая аналогичные показатели во 2-й группе и контроле – 5,3% ( $p = 0,026$ ) и 5,8% ( $p = 0,03$ ) соответственно.

По результатам дисперсионного и дискриминантного анализа была разработана математическая модель развития атерогенной ДЛП

у персонала ХОО, как одного из ведущих факторов начального атеросклероза на основании следующих показателей: величина ДАД, окружность талии (ОТ) и тип контакта с ХО (КХО). Окончательная дискриминантная модель содержала указанные переменные: ОТ ( $F = 15,4$ ;  $p < 0,001$ ), КХО ( $F = 5,0$ ;  $p = 0,026$ ) и ДАД ( $F = 2,7$ ;  $p = 0,04$ ), Полученная модель оказалась статистически достоверной (критерий  $F(3) = 8,6$ ;  $p < 0,001$ ).

При условии равной априорной вероятности наличия ДЛП у сотрудников, занятых на работах с ФОС на ХОО, были получены линейные классификационные дискриминантные функции:

$$F1 = 1,2 \cdot \text{ДАД} + 0,9 \cdot \text{ОТ} + 4,7 \cdot \text{КХО} - 92 \quad (1)$$

$$F2 = 1,3 \cdot \text{ДАД} + 1,1 \cdot \text{ОТ} + 5,4 \cdot \text{КХО} - 102 \quad (2),$$

где ДАД – диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.; ОТ – окружность талии, см; КХО – тип контакта с химическим оружием (группа контроля – 1, группа уничтожения ХО – 2, группа хранения ХО – 3).

Первая классификационная дискриминантная функция (F1) соответствует группе обследуемых без ДЛП, вторая (F2) – мужчинам с атерогенными изменениями липидограммы. Получение максимального значения функции позволяло определить принадлежность обследуемого к той или иной группе. Эффективность полученной модели составила 80% (чувствительность 67,4%, специфичность 88,1%).

По результатам проведенного исследования было установлено негативное влияние вида контакта с ХО на ряд компонентов, определяющих суммарный сердечно-сосудистый риск (ДЛП, уровень артериального давления) у молодых мужчин. Ранее было установлено, что вид работ, стаж работы с отравляющими веществами, возраст, табакокурение, наличие АГ и избыточной массы тела следует рассматривать как ФР развития ИБС у персонала ХОО [11, 15].

У мужчин 30–45 лет, занятых на работах с ФОС на ХОО, нами в целом были выявлены нормальные значения артериального давления и алиментарного статуса. У трети обследуемых по данным медицинской документации ранее диагностировалась АГ в рамках нейроциркуляторной астении гипертонического типа и I стадии гипертонической болезни, не требующая постоянной антигипертензивной терапии, со спонтанной нормализацией после продолжительного отдыха, чем и была обусловлена среднестатистическая меж- и внутригрупповая нормотензия. Следует отметить, что при оценке влияния алиментарного ожирения на риск сердечно-сосудистых осложнений, более чувствительным параметром по сравнению с ИМТ оказалась величина ОТ, позволяющая судить о наличии избытка висцерального жира, обладающего высокой иммунореактивностью и атерогенностью.

Исследование функции печени, поджелудочной железы и почек с помощью рутинных ла-

бораторных методов продемонстрировало нормальные средние значения соответствующих биохимических показателей, что отвечало условиям исследования (отсутствие изменений в органах-мишенях). Вместе с тем, выявленная ДЛП преимущественно за счет повышения уровня ЛПНП при длительном контакте с ХО может рассматриваться как с позиции раннего нарушения печеночной функции (место синтеза), так и в качестве косвенного признака дисфункции эндотелия (обмен и утилизация). Показано, что эндотелий сосудов является одной из главных мишеней ФОС при хроническом действии субсимптоматических концентраций. Субклинические дозы ФОС в отдаленном периоде могут вызывать гистопатологические изменения в миокарде с формированием вторичной кардиомиопатии и ранним развитием сердечной недостаточности и т.д.) [16, 17].

Патогенез хронического отравления сверхмалыми дозами токсикантов обусловлен взаимодополняющими факторами: развитием иммунореактивных процессов, перекисным окислением липидов и тканевой (циркуляторной) гипоксией [18, 19]. Эти механизмы могут лежать в основе эндотелиальной дисфункции и раннего развития атерогенеза и АГ у данной категории лиц [20].

Таким образом, у персонала ХОО, занятых на работах с ХО в арсеналах хранения контакт с ФОС может быть рассмотрен в качестве дополнительного (независимого) ФР развития атерогенной ДЛП и других заболеваний атерогенной этиологии.

### Выводы.

1. Риск сердечно-сосудистых осложнений у персонала, имеющего длительный контакт с ФОС в связи с обслуживанием арсеналов хранения ХО, значимо выше, чем у сотрудников других групп.

2. На развитие атерогенной дислипидемии у молодых сотрудников ХОО существенное влияние оказывают вид контакта с отравляющим веществом, висцеральное ожирение и повышение артериального давления.

3. Лиц, занятых на работах с ФОС, целесообразно выделять в отдельную группу риска развития заболеваний атерогенной природы с целью организационных мероприятий первичной профилактики.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Демографический ежегодник России. 2015. Стат. сб. Росстат. М., 2015. 264. [The Demographic Yearbook of Russia. 2015 Statistical Handbook. M. 2015. 264. (In Russian)].  
2. ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias-2016: The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European

Atherosclerosis Society (EAS). European Heart Journal. 2016; 37: 2999-3058.  
3. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice – 2016: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. European Heart Journal. 2016; 37: 2315-81.  
4. Каспаров А.А., Рева В.Д., Уйба В.В.

и др. Основы безопасности, профессиональной и экологической медицины при уничтожении химического оружия в России. М.: ФГОУ ИПК ФМБА России; 2008; 744. [Kasparov A.A., Reva V.D., Ujba V.V., et al. The foundations of security, occupational and environmental medicine at the destruction of chemical weapons in Russia. M.: FMBC. 2008; 744. (In Russian)].

5. Sergeev A.V. Persistent organic pollutants and atherosclerosis: Are there sufficient facts to draw the ultimate conclusion? J. Kardiologia. 2010; 50 (4): 50-54.  
6. Курляндский Б.А., Виноградова А.А. Современные тенденции в международном сотрудничестве по химической безопасности в свете Стратегического подхода к международному регулированию

- химических веществ (СПМРХВ/SAICM). Токсикологический вестник. 2008; 6: 2-8. [Kuryandskiy V.A., Vinogradova A.A. Modern trends in international cooperation in light of the Strategic Approach to International Chemicals Management (SAICM). Toxicological Review. 2008; 6: 2-8 (In Russian)].
7. Конева Т.А., Павлова А.А., Федорченко А.Н. и др. Мониторинг состояния здоровья работников объектов хранения и уничтожения химического оружия. Токсикологический вестник. 2011; 6 (111): 30-33. [Koneva T.A., Pavlova A.A., Fedorchenko A.N. et al. Monitoring of the health status of worker at facilities of chemical weapons storing and destruction facilities. Toxicological Review. 2011; 6 (111): 30-33 (In Russian)].
8. Халимов Ю.Ш., Язенок А.В., Иванов М.Б., Лось С.П., Загородников Г.Г., Горичный В.А. Сердечно-сосудистая заболеваемость персонала химически опасных объектов. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2013; 4 (44): 195-99. [Halimov Yu. Sh., Yazenok A.V., Ivanov M.B., Los S.P., Zagorodnikov G.G., Gorichny V.A. Morbidity of cardiovascular diseases in personnel of chemically hazardous objects. Bulletin of Russian Military medical Academy. 2013; 4 (44): 195-99 (In Russian)].
9. Капашин В.П., Прокопенко Ю.И., Назаров Д.В. и др. Клиническая эпидемиология экзогенных интоксикаций: М.: 2013; 452. [Kapashin V.P., Prokopenko Yu.I., Nazarov D.Y., et al. Clinical Epidemiology of exogenous intoxications. M. 2013; 452 (In Russian)].
10. Герасимова М.В. К вопросу о цене жизни и здоровья специалистов по предотвращению или ликвидации чрезвычайных ситуаций. Проблемы управления рисками в техносфере. 2007; 2: 53-6. [Gerasimova M.V. To the question about the price of life and health professionals on the prevention or elimination of emergency situations. Risk management issues in the technosphere. 2007; 2: 53-6 (In Russian)].
11. Горичный В.А., Язенок А.В., Иванов М.Б., Загородников Г.Г., Чепурнов В.А., Лазаренко Д.Ю. и др. Оценка рисков развития сердечно-сосудистых заболеваний у персонала химически опасных объектов. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2015; 2 (50): 96-9. [Gorichny V.A., Yazenok A.V., Ivanov M.B., Zagorodnikov G.G., Chepurnov V.A., Lazarenko D.Yu. et al. Risk assessment for cardiovascular diseases in personnel of chemically hazardous objects. Bulletin of Russian Military medical Academy. 2015; 2 (50): 96-9 (In Russian)].
12. Сердюков Д.Ю., Гордиенко А.В., Гуляев Н.И., Шуленин К.С., Шахнович П.Г., Маниев Р.Г. Донозологический атеросклероз и ассоциированные состояния: значение, диагностика, лечение. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2015; 3 (51): 234-38. [Serdyukov D.Y., Gordienko A.V., Gulyaev N.I., Shulenin K.S., Shahnovitch P.G., Makiev R.G.. Prenosological atherosclerosis and the associated states: value, diagnostics, treatment. Bulletin of Russian Military medical Academy. 2015; 3 (51): 234-38 (In Russian)].
13. Бовтушко П.В., Свистов А.С., Чепурнов В.А. Доклинический атеросклероз у работников нефтеперерабатывающего предприятия: связь с возрастом, состоянием липидного обмена и стажем работы. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2007; 2 (18): 171-5. [Bovtushko P.V., Svistov A.S., Chepurnov V.F. Preclinical atherosclerosis in refinery workers: relationship with age, a condition lipid metabolism and work experience. Bulletin of Russian Military medical Academy. 2017; 2 (18): 171-5 (In Russian)].
14. D'Agostino R.B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008; 117 (6): 743-53.
15. Синячкин Д.А., Халимов Ю.Ш., Лось С.П., Плотнокова С.Д., Говердовский Ю.Б., Язенок А.В. Влияние специфики профессиональной деятельности, табакокурения и возраста на заболеваемость работников химически опасных предприятий [Электронный ресурс]. Биомедицинский журнал «Medline.ru». 2010; 11: 736-42. [Sinyachkin D.A., Halimov Y.S., Los S.P., Plotnikova S.D., Goverdovsky Y.B., Yazenok A.V. Influence of professional activity, smoking and age on disease incidence in chemically hazardous factories workers. *MedLine.ru*. 2010; 11: 736-42 (In Russian)].
16. Zoltani C.K., Thome G.D., Baskin S.I. Cardiovascular toxicity of cholinesterase. *Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds*. 2006; 27: 381-88.
17. Shewale S.V. Sarin Causes Autonomic Imbalance and Cardiomyopathy: an Important Issue for Military and Civilian Health. *J. Cardiovascular Pharmacologia*. 2012;60 (1): 76-87.
18. Василий В.Б. Эндотелиальная дисфункция и ее возможные механизмы формирования у персонала объектов хранения и уничтожения химического оружия. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2008; 1 (21): 218-24. [Vasilyuk V.B. Endothelial dysfunction and its possible mechanisms of formation in worker at facilities of chemical weapons storing and destruction facilities. Bulletin of Russian Military medical Academy. 2008; 1 (21): 218-24 (In Russian)].
19. Ермолаева Е.Е., Гончаров Н.В., Радилов А.С. и др. Ингибирование эстераз и функциональная активность макрофагов, тромбоцитов, эндотелия при низкоуровневом воздействии диизопропилфторфосфата и фосфакола. Токсикологический вестник. 2008; 2: 2-7. [Yermolayeva Ye.Ye., Goncharov N.V., Radilov A.S. et al. Inhibition of esterase and functional activity of macrophages, trombocytes, endothelium at low exposure to diisopropylfluoro phosphate and phosphakol. Toxicological Review. 2008; 2: 2-7 (In Russian)].
20. Di Angelantonio E., Gao P., Pennells L. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. *JAMA*. 2012; 307 (23): 2499-2506.

V.A. Gorichny<sup>1</sup>, D. Yu. Serdukov<sup>1</sup>, A.V. Yazenok<sup>1</sup>, A.V. Nosov<sup>2</sup>, G.G. Zagorodnikov<sup>1</sup>, D. Yu. Lazarenko<sup>1</sup>, S.L. Vetoshkin<sup>3</sup>

## RISK FACTORS FOR THE DEVELOPMENT OF INITIAL MANIFESTATIONS OF ATHEROGENIC CARDIOVASCULAR DISEASES IN PERSONNEL OF CHEMICALLY HAZARDOUS FACILITIES

<sup>1</sup> S.M. Kirov Military Academy, 194044 Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of Toxicology, Federal Medico-Biological Agency of Russia, 192019 Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup> Federal Agency for Safe Storage and Destruction of Chemical Weapon, 119160 Moscow, Russian Federation

An outpatient examination of 530 employees engaged in work with chemical weapons related to organophosphorus compounds at chemically hazardous facilities was carried out. Risk factors for the development of cardiovascular diseases of atherogenic etiology among personnel of the facilities were studied in relation to the type of work performed using statistical analysis methods. When assessing the lipidogram, a high incidence of atherogenic dyslipidemia in a group of personnel involved in the storage of chemical weapons was found out in comparison with a group of people engaged in the destruction and control of chemical weapons (73.1 vs 61.2 vs 59.6%,  $p < 0.05$ ), as well as an increase in the level of low-density lipoproteins (4.2 [3.9-4.5] vs 3.8 [3.6-4.0] vs 3.9 [3.7-4.0] mmol / l,  $p < 0.05$ ). A mathematical model of the development of atherogenic dyslipidemia in young male employees of chemically dangerous objects was elaborated based on arterial pressure indices, nutritional status and nature of their professional activities. A type of contact with organophosphorus compounds may be considered as an additional (independent) risk factor for the development of atherogenic pathology. The development of atherogenic dyslipidemia in young age employees of chemically dangerous objects is significantly affected by the type of contact with the toxic agent, visceral obesity and increased blood pressure. The contact with organophosphorus compounds shall be considered as independent (additional) risk factor for diseases caused by atherosclerosis, they must be taken into account and level down at their primary prevention.

**Keywords:** risk factors, atherosclerosis, atherogenic pathology, chemically dangerous objects; chemical weapon; duration of contact with toxicant agents; organophosphorus compounds; arterial hypertension; dyslipidemia; visceral obesity.

Материал поступил в редакцию 11.07.2017 г.

УДК 615.212 : 615.22

# ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ КОМБИНАЦИИ ФЕНТАНИЛА И ДЕКСМЕДЕТОМИДИНА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Н.Г. Венгерович<sup>1</sup>, М.А. Юдин<sup>1</sup>,  
М.С. Вахвияйнен<sup>2</sup>, О.О. Владимирова<sup>1</sup>,  
И.И. Алексеева<sup>1</sup>, О.И. Алешина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>ООО «Инновационная фармацевтическая компания «Сильвер Фарм», 195279, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**Н**а экспериментальной модели сердечной недостаточности, вызванной ежедневным подкожным введением адреналина гидрохлорида в дозе 0,4 мг/кг в течение 7 суток, проведен сравнительный анализ влияния фентанила, дексмететомидина и их комбинации на толерантность к физической нагрузке, показатели электрокардиограммы и интегральные показатели переносимости (широта терапевтического действия). Также выполнено гистоморфологическое подтверждение полученных результатов. На предложенной модели сердечной недостаточности проведено исследование по оценке анальгетической активности и токсичности фентанила, дексмететомидина и комбинации на их основе в сравнении с интактными животными. Показано, что на фоне патологии сердца для каждого из данных препаратов наблюдается снижение среднелетальных доз на 13-25 %. При этом, в отличие от анальгезии монопрепаратами, при введении комбинации лекарственных средств среднеэффективная обезболивающая доза не изменялась.

**Ключевые слова:** фентанил, дексмететомидин, сердечно-сосудистая недостаточность, ишемическая болезнь сердца.

**Введение.** По данным эпидемиологического исследования ЭПОХА-ХСН распространенность сердечной недостаточности (СН) среди населения Российской Федерации составила 7 % случаев (8 млн. человек) [1]. При этом отмечено снижение возрастной границы до 20-29 лет [2]. СН остается одной из основных причин смертности, а также временной или стойкой утраты трудоспособности населения [3-4]. Наличие СН у пациентов также сопряжено с высоким риском осложнений и летальности после оперативного вмешательства [5].

На сегодняшний день адекватная анестезия у пациентов с сопутствующей патологией сердечно-сосудистой системы остается актуальной задачей. Наиболее остро стоит вопрос оказания

анестезиологической помощи пациентам с перенесенным острым инфарктом миокарда [6]. В анестезиологической практике широко используются опиоиды короткого действия, такие как фентанил и его производные, а также центральные  $\alpha_2$ -адреномиметики ( $\alpha_2$ -АМ), например, дексмететомидин. При этом доказано влияние обоих препаратов на сердечно-сосудистую систему (ССС) [7]. В ряде исследований показано изменение фармакологической активности фентанила на фоне патологии ССС, трудности подбора терапевтической обезболивающей дозы, что в единичных случаях приводило к гибели пациентов [8]. При этом практические рекомендации для коррекции доз анальгетиков на фоне СН часто отсутствуют.

**Венгерович Николай Григорьевич (Vengerovich Nikolai Grigor'evich)**, к.м.н., заместитель начальника отдела ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, nikolai@vengerovich.ru

**Юдин Михаил Анатольевич (Judin Mihail Anatol'evich)**, д.м.н., доцент по специальности токсикология, начальник отдела ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, mikhail.judin@gmail.com

**Вахвияйнен Мария Сергеевна (Vakhviyainen Mariya Sergeevna)**, м.н.с. ООО «Инновационная фармацевтическая компания «Сильвер Фарм», 195279, г. Санкт-Петербург, kalmukova.spbu@gmail.com

**Владимирова Ольга Олеговна (Vladimirova Ol'ga Olegovna.)**, к.б.н., научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург

**Алексеева Ирина Ивановна (Alekseeva Irina Ivanovna)**, научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург

**Алешина Ольга Игоревна (Aleshina Ol'ga Igorevna)**, младший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург



Несмотря на наличие опиоидных рецепторов в сердце и их центральные эффекты, считается, что действие опиоидов на миокард, особенно на сократительные свойства, значительно слабее, чем у многих других внутривенных и ингаляционных анестетиков [9]. В связи с этим исследование фармакологического профиля агонистов опиоидных рецепторов,  $\alpha 2$ -АМ, а также применение их в комбинации на фоне патологии сердца остается актуальной задачей.

*Цель исследования:* экспериментально обосновать модель сердечной недостаточности и изучить на ней обезболивающую эффективность и широту терапевтического действия (ШТД) при применении комбинации фентанила и дексметомидина в сравнении с монопрепаратами.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 210 белых нелинейных крысах-самцах массой 200-240 г (питомник Рапполово, Ленинградская область), содержащихся в стандартных условиях вивария. Экспериментальные исследования проводили в соответствии с требованиями Приказа Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 г № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики». В качестве анальгетиков использовали субстанцию фентанила (N (1-фенилэтилпиперидин-4-ил)-N-фенилпропанамид) и дексметомидина (4-[(S)-1-(2,3-диметилфенил)этил]-1H-имидазола гидрохлорид). Анальгетическую активность препаратов и их комбинацию исследовали в тесте отдергивания хвоста от теплового излучения на приборе «Tail-Flick Analgesia Apparatus» (Columbus Instruments, USA) через 10 мин после внутримышечного введения. Критерием болевого порога животных служил латентный период отдергивания хвоста, а критерием анальгезии – его увеличение до 15 с и более [10].

Для указанных препаратов в предварительных экспериментах были рассчитаны средние эффективные дозы ( $ED_{50}$ ) по эффекту обезболивания, которые при внутримышечном введении составили для фентанила и дексметомидина  $54,5 \pm 6,9$  и  $22,5 \pm 5,17$  мкг/кг, соответственно. При их совместном введении было выявлено взаимное потенцирование эффектов, которое усиливалось с увеличением доли агониста опиоидных рецепторов. Применение метода изоболографического анализа в сочетании с математической моделью на основе логистической регрессии позволило рассчитать оптимальное соотношение препаратов в составе комбинации и определить ее среднюю эффективную дозу по эффекту анальгезии –  $34,88 \pm 5,71$  мкг/кг ( $30,66$  мкг/кг для фентанила и  $4,22$  мкг/кг для дексметомидина).

Для формирования у животных СН и ИБС использовали модель адреналинового повреждения миокарда [11] в модификации Гаман Д.В. и со-

авт. [12]. Было показано, что подкожное введение адреналина гидрохлорида на протяжении 7 суток в дозах, указанных авторами приводило к гибели части животных. В связи с чем, ежедневная доза адреналина была скорректирована с 1 до 0,4 мг/кг, что потребовало подтверждения предложенной модели. Кроме того, особенно важным для исследования считали изменение функциональной способности сердца. В связи с этим, для подтверждения модели исследовали изменение толерантности к физической нагрузке и изменения со стороны электрокардиограммы (ЭКГ).

Физическую работоспособность исследовали используя методику «Однократное плавание с грузом до отказа». Нагрузка плаванием осуществлялась в сосудах из оргстекла с величиной слоя воды 50 см. Тестирование выполняли в одинаковое время с 9:00 до 11:00 утра. Со стенок сосуда предварительно удаляли пузырьки воздуха. Температура воды поддерживалась постоянной на уровне  $28-29^{\circ}\text{C}$ . Крысы тестировались раздельно, по одной в каждом сосуде с отягощением грузом 7 % от массы тела, что соответствовало смешанному типу нагрузок. В качестве груза использовали свинцовые шарики, крепление которых осуществляли при помощи резинок к корню хвоста. Для экспериментальных исследований отбирали животных, длительность плавания которых находилась в пределах 200-600 с.

Для регистрации параметров сердечно-сосудистой системы применяли компьютерный электрокардиограф «ecgTUNNEL» (Emka Technologies, Франция). Регистрацию ЭКГ осуществляли при размещении крыс в пеналах с расположением конечностей на электродах-пластинах, что позволяло выполнять исследования без подкожного введения игольчатых электродов. Регистрацию данных производили через 60 с после нормализации показателей в течение 5 мин.

Для оценки изменений со стороны миокарда после аутопсии животных сердце фиксировали в 10 % нейтральном формалине, обезвоживали и заливали в парафин по общепринятой методике. Микропрепараты поперечных срезов миокарда окрашивали двумя методиками: фосфорновольфрамовым гематоксилином по Маллори и гематоксилином по Карацци и эозином. Обработку материала проводили на микроскопе Leica DM 2500 и Olympus CX 41, фотосъемку осуществляли с помощью цифровой фотокамеры Leica DFC 490 с базовым программным обеспечением Leica Image Manager фотокамеры VideoZavr 28.5.

Характеристики острой токсичности исследуемых препаратов определяли при однократном внутримышечном введении. Наблюдение за животными включало регистрацию общего состояния и их поведения, сроков развития основных

признаков интоксикации и гибели. Длительность наблюдения составила 14 суток.

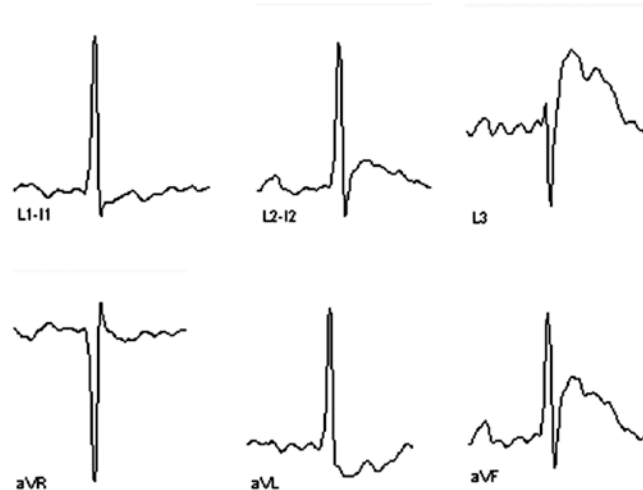
Процедуры статистического анализа выполняли с помощью пакета Statistica 12. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимали равным 0,05. В случае превышения достигнутого уровня значимости статистического критерия этой величины принимали нулевую гипотезу. Проводили проверку нормальности распределения данных с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения центральных параметров связанных выборок использовали параметрический парный t-критерий в тесте Стьюдента.

На основании полученных данных рассчитывали  $ED_{50}$  и среднелетальные дозы ( $LD_{50}$ ) методом пробит-анализа по Финни. При расчете  $ED_{50}$  использовали различные дозы в 5 группах по 6 животных, при расчете  $LD_{50}$  – дозы в 5 группах по 4 животных. ШТД рассчитывали, как отношение  $LD_{50}$  к  $ED_{50}$ .

**Результаты и обсуждение.** В предварительных экспериментах уточняли особенности изменения работоспособности, ЭКГ и морфологическую картину после подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг. С целью исследования изменения толерантности к физической нагрузке на фоне СН исследовали время плавания животных с грузом ( $M \pm SD$ ,  $n=150$ ). Было установлено, что время плавания крыс до введения адреномиметика составило  $453,31 \pm 87,72$  с. Спустя 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина регистрировали статистически значимое снижение времени плавания до  $224,42 \pm 43,26$  с ( $p < 0,001$ ), что позволило сделать вывод о двукратном снижении физической работоспособности на модели экспериментальной СН.

У части животных ( $n=20$ ) спустя сутки после контрольного плавания при регистрации ЭКГ в покое на протяжении всего периода наблюдения отмечали наличие элевации сегмента ST (2, 3-е, aVF отведения), что можно интерпретировать как проявление ишемии миокарда (рис. 1). Нарушений ритма и проводимости зафиксировано не было.

На серии поперечных срезов миокарда отмечены крупные участки трансмурального повреждения мышечной ткани в области верхушки сердца (рис. 2), эпикардального отдела и в центральной зоне левого желудочка (рис. 3). Диффузно по миокарду а левом и правом желудочках и межпредсердной перегородке фиксировали отдельные кардиомиоциты или их мелкие скопления в состоянии деструкции, которое характеризовалось потерей волокнами ядерного компонента, отсутствием поперечной исчерченности, некоторым разрыхлением цитоплазмы и появлением в по-

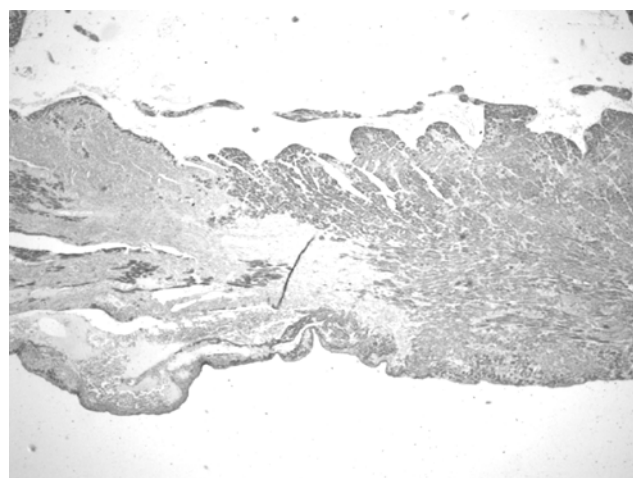


**Рис. 1.** ЭКГ крыс через 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг.

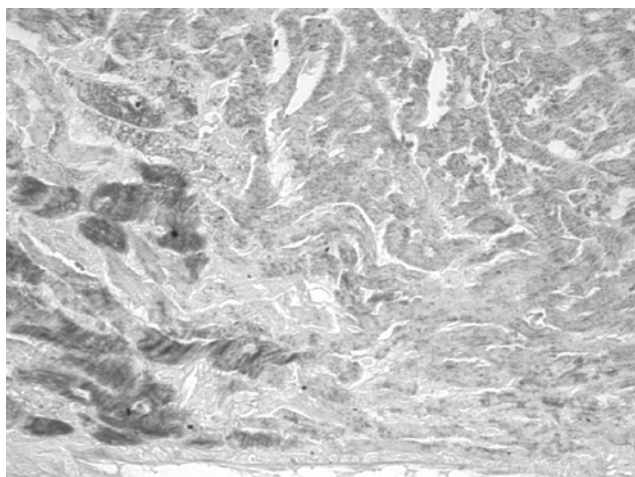
следней набухших канальцев саркоплазматической сети, фрагментацией или полной потерей миофибрилярного компонента (рис. 4). Повсеместно определялся интерстициальный отек, инфильтрированный лимфоцитами и многочисленными макрофагами с признаками митотической активности. В целом, выявленные особенности гистологической картины морфологического субстрата указывали на повреждение миокарда, которое обуславливает снижение толерантности к физической нагрузке и электрофизиологические сдвиги на ЭКГ.

У животных с СН исследовали изменения анальгетической активности фентанила, дексметомидина и комбинации на их основе ( $n=90$ ) (табл.).

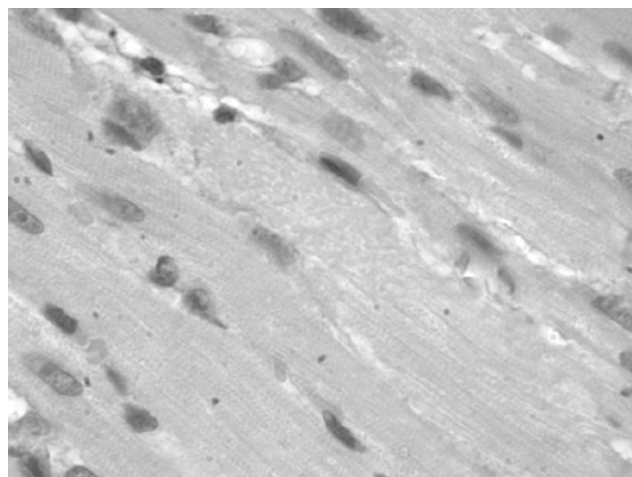
В ходе экспериментов установлено увеличение  $ED_{50}$  фентанила с  $54,5 \pm 5,9$  до  $67,62 \pm 2,8$  мкг/кг.  $ED_{50}$  у дексметомидина, напротив, снижалась



**Рис. 2.** Поперечный срез сердца в области верхушки через 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг, окраска по Маллори, ув.  $\times 40$ .



**Рис. 3.** Поперечный срез сердца в области левого желудочка через 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг окраска по Маллори, ув.×400.



**Рис. 4.** Поперечный срез сердца в области левого желудочка через 7 суток после ежедневного подкожного введения адреналина в дозе 0,4 мг/кг, окраска гематоксилином по Карацци и эозином, ув.×1000.

Таблица

**Среднеэффективные анальгетические и среднелетальные дозы, параметры безопасности фентанила, дексмететомидина и комбинации на их основе ( $XD_{50} \pm SED$ , мкг/кг)**

Показатель	Препарат		
	Фентанил	Дексмететомидин	Комбинация
Интактные животные			
ED <sub>50</sub>	54,5±5,9	22,5±3,17	34,9±5,7
LD <sub>50</sub>	9786±563	1425±111	3657±327
ШТД	180	63	105
Животные с сердечной недостаточностью			
ED <sub>50</sub> CH	67,6±2,8	15,1±2,4	33,4±2,8
LD <sub>50</sub> CH	8480±197	1074±81	2766±148
ШТДСН	125	71	83

с 22,5±3,17 до 15,1±2,4 мкг/кг. При этом среднеэффективная доза комбинации средств анальгетической рецептуры не изменялась и составила 33,4±2,82 мкг/кг.

Токсичность анальгетиков и комбинации на их основе исследовали как у интактных животных (n=60), так и после моделирования СН (n=60) (табл.). Во всех экспериментальных группах с СН регистрировали уменьшение среднелетальных доз в сравнении с интактными животными. При этом клиническая картина интоксикации не изменялась и характеризовалась последовательной сменой симптомов замирания, развития каталепсии (кроме группы дексмететомидина) и глубокого наркоза. Гибель животных во всех груп-

пах наступала спустя 30-50 мин после введения препаратов. Продолжительность общей анестезии у выживших животных находилась в пределах 34 ч от момента введения анальгетиков.

Полученные данные позволили заключить, что ШТД у животных без СН снижалась в ряду фентанил (180) – комбинация (105) – дексмететомидин (63). Такая же последовательность прослеживалась в группах животных с СН: фентанил (125) – комбинация (83) – дексмететомидин (71) При этом за счет снижения ED<sub>50</sub> отмечено увеличение ШТД дексмететомидина до 71. Для группы комбинации анальгетиков, несмотря на снижение ШТД в среднем на 21 %, эффективные дозы оставались неизменными.

**Заключение.** Проведенное исследование подтвердило литературные данные об изменении анальгетической эффективности агонистов опиоидных рецепторов на фоне патологии сердечно-сосудистой системы. Также было показано, что у животных с СН существенно снижается ED<sub>50</sub> дексметомидина. Во всех экспериментальных группах зарегистрировано снижение среднелетальных доз, что актуализирует необходимость тщательного планирования анестезиологического пособия у лиц с СН. При этом зарегистрированное отсутствие изменения ED<sub>50</sub> у экспериментальной комбинации на основе фентанила и дексметомидина

позволяет характеризовать ее как более устойчивую и предсказуемую при применении у больных с патологией сердца, что чрезвычайно важно в клинической практике. Отмеченные в ходе экспериментов результаты указывают на целесообразность разработки комбинированной рецептуры, включающей опиоидный агонист и  $\alpha$  2-AM в качестве перспективного анальгетического средства. Отдельным направлением для решения проблемы «усиления» токсичности может быть введение в состав комбинированной рецептуры антагонистов опиоидных и центральных  $\alpha$ 2-адренорецепторов с управляемой фармакокинетикой.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беленков Ю.Н., Фомин И.В., Мареев В.Ю. и др. Первые результаты Российского эпидемиологического исследования по ХСН. Журнал Сердечная Недостаточность. 2003; 4 (1):26-30.
2. Беленков Ю.Н., Фомин И.В., Мареев В.Ю. и др. Распространенность хронической сердечной недостаточности в Европейской части Российской Федерации-данные ЭПОХА-ХСН (часть 2). Журнал Сердечная Недостаточность. 2006; 7 (3): 3-7.
3. Клузев В.М. Ардашев В.Н., Брюкховецкий А.Г., Михеев А.А. Ишемическая болезнь сердца. М.: Медицина; 2004.
4. Бадин Ю.В., Фомин И.В. Выживаемость больных ХСН в когортной выборке Нижегородской области (данные 1998-2002 годов.). Всероссийская конференция ОССН: «Сердечная недостаточность; 2005 год». М., 2005; 31-32.
5. Заболотских И.Б., Лебединский К.М., Трембач Н.В. Perioperative ведение больных с сопутствующей хронической сердечной недостаточностью. Клинические рекомендации ФАР, 2015.
6. Площенко Ю.А. Вопросы профилактики сердечно-сосудистых осложнений анестезиологического обеспечения некардиальных оперативных вмешательств. Медицина неотложных состояний. 2013; 6 (53) 183-187.
7. Миллер Р. Анестезия Роналда Миллера. Лебединский К. М. ред.; СПб.: Издательство «ЧЕЛОВЕК»; 2015.
8. Camu F., Vanlersberghe C. Pharmacology of systemic analgesics. Clin. Anaesthesiol. 2002; 16: 475-488.
9. Бунятян А.А., ред., Мизикова В.М. Анестезиология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
10. Мионов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.
11. Целлариус Ю.Г., Семенова Л.А. Гистопатология очаговых метаболических повреждений миокарда. Новосибирск: Наука; 1972.
12. Гаман Д.В., Кононенко Н.Н., Губина-Вакулик Г.И. и др. Особенности морфологической ультраструктуры миокарда при экспериментальной ишемии миокарда. Украинский биофармацевтический журнал. 2011;16(5):16-20.
1. Belenkov Yu.N., Fomin I.V., Mareev V.Yu. et al. The first results of Russian epidemiological studies on CHF. Zhurnal Serdechnaya Nedostatochnost'. 2003; 4 (1):26-30 (in Russian).
2. Belenkov Yu.N., Fomin I.V., Mareev V.Yu. et al. The prevalence of chronic heart failure in the European part of the Russian Federation-data AGE-CHF ( part 2). Zhurnal Serdechnaya Nedostatochnost'. 2006; 7 (3): 3-7 (in Russian).
3. Klyuzhev V.M. Ardashev V.N., Bryukhovetskiy A.G., Mikheev A.A. Ischemic heart trouble. M.: Meditsina; 2004 (in Russian).
4. Badin Yu.V., Fomin I.V. The survival rate of patients with CHF in a cohort sample of Nizhny Novgorod region (data from 1998-2002.). Vserossiyskaya konferentsiya OSSH: «Serdechnaya nedostatochnost'. 2005». M., 2005; 31-32 (in Russian).
5. Zabolotskikh I.B., Lebedinskiy K.M., Trembach N. V. Perioperative management of patients with concomitant chronic heart failure. Clinical guidelines of the Federation of anaesthesiologists and reanimatologists, 2015 (in Russian).
6. Ploshhenko Yu.A. Questions about prevention of cardiovascular complications of anesthesia non cardiac surgical interventions. Meditsina неотложных состояний. 2013; 6 (53) 183-187 (in Russian).
7. Miller R Lebedinskiy K. M. ed. Anesthesia Ronald Miller. Tutorial. SPb.: Izdatel'stvo «CHELOVEK»; 2015(in Russian).
8. Camu F, Vanlersberghe C. Pharmacology of systemic analgesics. Clin. Anaesthesiol. 2002. 16: 475-488.
9. Bunyatyan A.A., ed., Mizikova V.M. Anesthesiology national leadership. M.: GEOTAR-Media, 2011 (in Russian).
10. Mironov A. N. The guidelines for preclinical studies of pharmaceuticals. part 1. M.:Grif i K; 2012 (in Russian).
11. Tsellariyus Yu.G., Semenova L.A. Histopathology focal metabolic myocardial damage. Novosibirsk: Nauka; 1972 (in Russian).
12. Gaman D.V., Kononenko N.N., Gubina-Vakulik G.I. et al. The features of the morphological ultrastructure of the myocardium in experimental myocardial ischemia. Ukrainskij biofarmatsevticheskij zhurnal. 2011;16 (5):16-20 (in Russian).

N.G. Vengerovich<sup>1</sup>, M.A. Yudin<sup>1</sup>, M.S. Vakhviyajnen<sup>2</sup>, O.O. Vladimirova<sup>1</sup>,  
I.I. Alekseeva<sup>1</sup>, O.I. Aleshina<sup>1</sup>.

## SAFETY STUDY OF FENTANYL AND DEXMEDETOMIDINE COMBINATION ON AN EXPERIMENTAL MODEL OF IMPAIRED CARDIAC FUNCTION

<sup>1</sup>State Research and Test Institute of Military Medicine, R.F.Ministry of Defense, 195043, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup>Innovative Pharmaceutical Company «Silver Pharm», 195279, Saint-Petersburg, Russian Federation

A comparative analysis of influence of fentanyl, dexmedetomidine and their combination on physical activity tolerance, electrocardiogram indexes and integral tolerance rates (therapeutic indices range) was conducted on an experimental model of cardiac failure induced by daily subcutaneous injections of 0.4 mg/kg adrenaline hydrochloride over 7 days. The findings were also confirmed by histomorphologic validation. In a suggested model of impaired cardiac function, the analgesic activity and toxicity of fentanyl, dexmedetomidine and their combination were assessed in comparison with intact animals. It was shown that on the background of cardiac pathology, 13 to 25% decrease of average lethal doses was observed for each of the drugs under consideration. At the same time when drugs were administered in combination, an average analgesic dose did not change unlike single-drug analgesia.

**Keywords:** fentanyl, dexmedetomidine, cardiovascular failure, coronary heart disease.

Материал поступил в редакцию 17.10.2016 г.

УДК 615.212 : 615.22

# О СООТНОШЕНИИ МЕЖДУ ОБЩЕПРИНЯТОЙ ПРАКТИКОЙ ОЦЕНКИ РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ПРИ ПОЛИМЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЭКСПОЗИЦИЯХ И ТЕОРИЕЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ

И.А. Минигалиева<sup>1</sup>,  
Б.А. Кацнельсон<sup>1</sup>, В.Б. Гурвич<sup>1</sup>,  
Л.И. Привалова<sup>1</sup>, В.Г. Панов<sup>2</sup>,  
А.Н. Вараксин<sup>2</sup>, М.П. Сутункова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФБУН «Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФБУН «Институт промышленной экологии» УрО РАН, 620990, г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Х**отя токсикология смесей является научной базой оценки кумулятивных рисков для здоровья, связанных с широко встречающимся комбинированным действием двух или более металлов и их соединений, однако, полного соответствия между ними нет, причём некоторые противоречия являются фундаментальными. Такое положение дел может быть объяснено не только упрощёнными подходами, характерными для методологии оценки риска, но и крайней сложностью теории комбинированной токсичности, основные аспекты которой авторы рассматривают на основе литературных и, главным образом, собственных ранее опубликованных данных.

**Ключевые слова:** токсичные металлы, типология комбинированной токсичности, оценка рисков.

**Введение.** Загрязнение производственной и окружающей среды соединениями токсичных металлов и некоторых металлоидов в черной и цветной металлургии, а также при электросварке, лазерной обработке сплавов и гальваностегии является, как правило, многокомпонентным. Между тем, гигиеническое нормирование указанного загрязнения и экспертные оценки связанных с ним рисков для здоровья чаще всего осуществляются обособленно по тем элементам, которые считаются приоритетными в конкретных условиях. Так, например, при оценке риска для здоровья населения (прежде всего, детского) в связи с проживанием в зоне влияния медеплавильного производства доминирует рассмотрение некоторых эффектов действия свинца, а для

здоровья электросварщиков – нейротоксичность марганца и т. д. и т. п., хотя хорошо известно, что в первом случае среда обитания загрязнена также мышьяком, кадмием, медью и цинком, а во втором играет роль воздействие оксидов не только марганца, но и железа, хрома, никеля, кремния.

Всё это может казаться не создающим особых проблем контроля многокомпонентной вредной экспозиции и оценки связанных с нею многофакторных рисков для здоровья, поскольку в соответствующие обязательные или рекомендательные методические документы ряда стран, в том числе России, заложены подходы, основанные на суммировании (аддитивности) вредного действия совместно присутствующих токсичных

**Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna)**, кандидат биологических наук, зав. лабораторией промышленной токсикологии ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Россия, ilzira-minigalieva@yandex.ru;

**Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich)**, доктор медицинских наук, профессор, и.о. зав. отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия, bkaznelson@etel.ru;

**Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich)**, доктор медицинских наук, директор ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия, gurvich@ymrc.ru;

**Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna)**, доктор медицинских наук, профессор, зав. лабораторией научных основ биологической профилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия, privaloval@yahoо.com;

**Панов Владимир Григорьевич (Panov Vladimir Grigoryevich)**, кандидат физ.-мат. наук, доцент, зав. лабораторией математических методов в экологии и медицине ФБУН «Институт промышленной экологии» УрО РАН, 620990, Екатеринбург, Россия, vpanov@esko.uran.ru;

**Вараксин Анатолий Николаевич (Varaksin Anatoly Nikolayevich)**, доктор физ.-мат. наук, профессор, главный научный сотрудник ФБУН «Институт промышленной экологии» УрО РАН, 620990, Екатеринбург, Россия, varaksin@esko.uran.ru

**Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna)**, кандидат медицинских наук, зав. лабораторией токсикологии окружающей среды ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Россия, marinasutunkova@yandex.ru;

веществ. Однако при ближайшем рассмотрении [1, 2] научная трактовка комбинированного действия ядов вообще и металлов, в частности, не оказывается достаточно надёжной и однозначно понимаемой теоретической базой указанных подходов.

Современная токсикологическая наука действительно характеризует комбинированное токсическое действие (КТД), используя понятие «аддитивность» как основное. Однако она описывает и отклонения в ту или иную сторону от этого типа КТД терминами «супераддитивность» («синергизм») и «субаддитивность», в то время как в практической реализации гигиенического нормирования и оценки риска эти варианты КТД фактически игнорируются. Ещё важнее то, что сущность самого явления аддитивности понимается неодинаково разными авторами (например, [3-7] или разными агентствами даже одной и той же страны (например, US EPA и ACGIH в США) в зависимости от явной или подразумеваемой приверженности определённым теоретическим представлениям, которые складываются на базе двух основных парадигм.

Первая из них принимает, что существует особый тип КТД, при котором один и тот же эффект разных веществ, входящих в комбинацию, обусловлен разными точками приложения и/или разными механизмами токсического действия. Поэтому эффект каждого вещества, входящего в комбинацию, может развиваться якобы независимо от одновременного развития того же самого эффекта других её составляющих, так что суммарный эффект комбинированного действия оказывается равным сумме всех эффектов изолированного действия этих составляющих (так называемая «аддитивность эффектов»). При наличии же некоторого взаимовлияния эффектов комбинированных веществ суммарный эффект может оказаться выше или ниже указанной суммы эффектов на определённую величину, зависящую от этого взаимодействия.

Общим математическим выражением сказанного служит уравнение:

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

- которое для простейшего и чаще всего рассматриваемого случая бинарной комбинации принимает вид:  $y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2$ . (2)

Здесь  $y$  есть величина рассматриваемого показателя состояния организма при действии токсической комбинации,  $b_0$  - его величина вне такого действия,  $x_i$  - доза каждого из  $n$  веществ, составляющих комбинацию,  $b_i$  - соответствующий коэффициент регрессии для изолированного действия этого вещества, а члены общего вида  $b_{12\dots n}x_1x_2\dots x_n$  (для бинарного КТД - только  $b_{12}x_1x_2$ ) соответствуют дозозависимому влиянию

взаимодействия эффектов. Если последнее несущественно, то эти комбинационные (т.н. «перекрестные») члены уравнения значимо не отличаются от нуля, и оно выражает аддитивность эффектов. Если же комбинационный член уравнения имеет статистически значимое положительное или отрицательное значение, то есть эффект комбинации оказывается выше или ниже суммы эффектов, то тип КТД характеризуется, соответственно, как супер- или субаддитивность.

Однако чем больше веществ входит в комбинацию, тем выше вероятность того, что среди многих перекрестных членов вида  $b_{12\dots n}x_1x_2\dots x_n$  окажутся как нулевые, так и существенно отличающиеся от нуля, но с разными знаками. В подобных (как показывает опыт, нередких) случаях практически невозможно найти адекватные термины, которые недвусмысленно определяли бы, какой тип КТД имеет место для комбинации в целом. Поэтому понятие аддитивности эффектов и производные от него понятия супер- и субаддитивности реально применимы только к описанию типа бинарного КТД.

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

Таким образом, общепринятая типология КТД является однозначной только для характеристики бинарных комбинаций, причём даваемой по однонаправленным эффектам. В более общем случае некоторое уточнение в неё может внести различие между «явным антагонизмом» (под которым предлагается понимать противоположную направленность действия двух токсичных веществ по тому или иному эффекту) и «скрытым антагонизмом», который проявляется субаддитивностью однонаправленных эффектов.

Вторая распространённая парадигма теории КТД принимает, что два или более веществ, входящих в комбинацию, могут иметь одну и ту же точку приложения и один и тот же механизм действия, отличающегося только по силе. Иными словами, они действуют как действовало бы одно и то же вещество в разных дозах. Основной тип КТД в этом случае обозначается как «аддитивность доз» или, по имени автора, впервые сфор-

мулировавшего рассматриваемую парадигму как «аддитивность Лёве» [8].

Если речь идёт о комбинации веществ А и В в дозах  $d_A$  и  $d_B$ , а  $D_A$  и  $D_B$  являются изоэффективными дозами этих веществ по определённому эффекту действия (например, равными долями от их соответствующих значений ЛД50), то одна и та же величина этого эффекта будет получена от их комбинированного воздействия в разных количественных соотношениях действующих доз при соблюдении условия:

$$(d_A / D_A) + (d_B / D_B) = 1,0. (3)$$

Если же это равенство не соблюдается, то есть для получения заданной величины эффекта потребуется сумма отношений фактических доз к изоэффективным, которая либо больше, чем 1,0, либо меньше, чем 1,0, то это свидетельствует об антагонизме или синергизме доз, соответственно.

В то время как теоретическое разграничение между вышерассмотренными парадигмами КТД представляется весьма чётким, в научной литературе и, что ещё более важно, в ряде регламентирующих или рекомендательных документов международного и национального уровня нельзя не отметить существенную неопределённость их использования. Так, основные типы КТД были сформулированы в 1981 году специальной экспертной группой Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) в соответствии только с парадигмой аддитивности эффектов без всякого упоминания об альтернативной, но уже в 1992 году так называемое Саарисельское соглашение рекомендовало использовать как аддитивность эффектов, так и аддитивность доз. В 2009 году отчёт международной рабочей группы ВОЗ по оценке комбинированных химических воздействий [9] вновь декларировал принципиальное различие между двумя рассмотренными выше парадигмами, но в то же время является примером их смешения. В частности, говоря о синергизме и антагонизме, как об «отклонениях от аддитивности доз», указанный отчёт расшифровывает это понятие в терминах аддитивности эффектов.

Методология оценки рисков для здоровья, которая во многих странах, включая Россию, принята или официально рекомендована для использования, предлагает характеризовать многофакторный риск того или иного нарушения здоровья, вызванного комбинированными вредными экспозициями населения, как сумму однофакторных рисков. Если речь идёт о суммировании рисков (в частности, канцерогенных), количественно характеризующихся как математическая вероятность возникновения или как прогнозируемое дополнительное число случаев заболева-

ния, то сложение этих величин вполне согласуется с парадигмой аддитивности эффектов. Однако для суммарной характеристики многофакторных не канцерогенных рисков используется и так называемый индекс опасности (HI – “hazard index”), представляющий собой сумму коэффициентов опасности (HQ – “hazard quotients”) обособленных вредных веществ, то есть сумму отношений оцененных доз этих веществ к соответствующим референтным (RfD). Этот расчёт внешне сходен с математическим выражением аддитивности доз, но на самом деле не имеет с ним ничего общего как потому, что референтные дозы разных веществ не являются изоэффективными, так и потому, что получаемая величина HI может быть больше или меньше, чем 1,0, но это вовсе не говорит об отклонении от аддитивности доз.

В ряде стран (в том числе, в России) оценка соответствия уровней многокомпонентного загрязнения воздуха рабочих помещений, а иногда и других объектов среды нормативным требованиям (в России – ПДК) проводится по соблюдению или несоблюдению равенства:

$$C_1/ПДК_1 + C_2/ПДК_2 + C_3/ПДК_3 + \dots + C_n/ПДК_n = 1$$

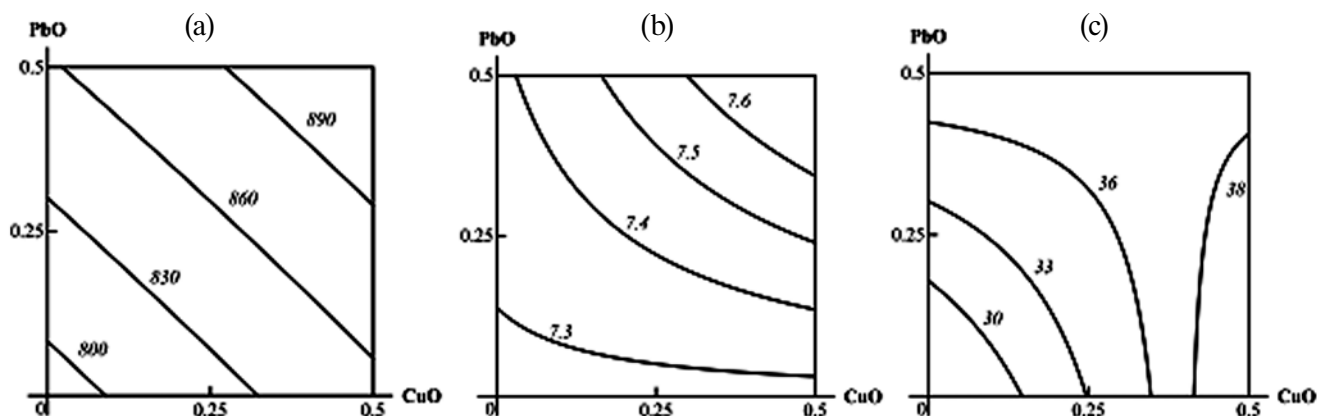
- где  $C_i$  фактически наблюдаемые концентрации каждого из  $n$  веществ.

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

Анализ международного опыта и обобщение результатов наших собственных исследований [1, 2, 10-15] свидетельствуют о следующем:

1. Вышеназванные парадигмы отражают скорее способ математического моделирования КТД, чем какие бы то ни было фундаментальные различия механизмов токсического действия разных веществ.

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



**Рисунок 1.** Примеры изоболограмм, характеризующих субхроническую комбинированную токсичность наночастиц CuO и PbO по влиянию на: (а) число тромбоцитов (аддитивность); (б) число эритроцитов (супераддитивность при низких и аддитивность при высоких уровнях эффекта) (с) диурез (субаддитивность однонаправленного действия при низких и противонаправленное действие при высоких уровнях эффекта). Дозы CuO и PbO на осях даны в мг на крысу. Числа на кривых соответствуют величине эффекта  $Y$  (тромбоциты  $\cdot 10^9$ /л; эритроциты  $\cdot 10^{12}$ /л; суточный диурез мл) [15].

Выявление подобного многообразия типов КТД при воздействии одной и той же пары токсических веществ (пример которого иллюстрируется изоболограммами Лёве на Рис.1) даёт важную информацию для понимания и прогнозирования клинической картины и эпидемиологии соответствующих комбинированных интоксикаций, но для использования научной информации в практических целях санитарного надзора итоговая оценка каждой изученной комбинации должна быть более или менее однозначной. Решить эту задачу позволяет введение дополнительного понятия «основной», или «определяющий» тип КТД [5, 15], выбор которого опирается на ряд критериев:

- преобладающее значение того типа КТД, который характерен для низких доз;
- в тех случаях, в которых рассматриваемая комбинация в реальных условиях встречается, главным образом, в узком диапазоне соотношений между её компонентами – преобладающее значение того типа КТД, который характерен для этого диапазона;
- в тех случаях, в которых известны органы и системы организма, играющие наибольшую роль в развитии данной комбинированной интоксикации – преобладающее значение того типа КТД, который характерен для эффектов, связанных с действием именно на эти органы и системы;
- в тех случаях, в которых хотя бы одно из веществ, входящих в комбинацию, относится к высоко опасным (в особенности, когда оно обладает генотоксичностью, канцерогенностью, репродуктивной токсичностью) – преобладающее значение того типа КТД, который характерен для соответствующих эффектов.

При воздействии комбинации более, чем двух токсических веществ, целесообразен анализ КТД

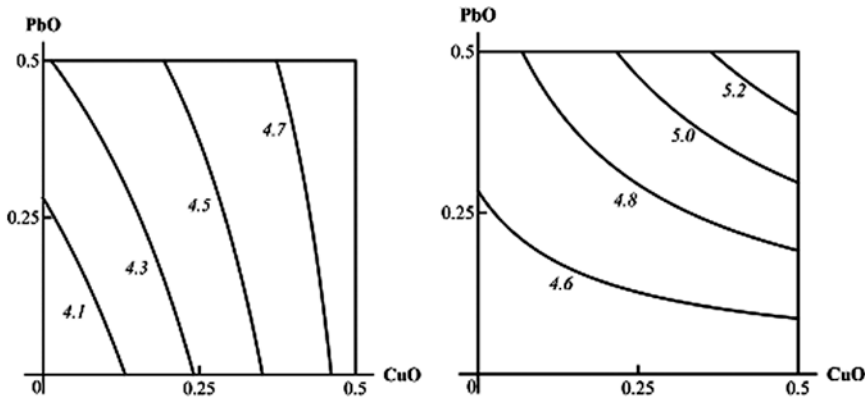
для нескольких бинарных сочетаний, вычленимых из такой многокомпонентной комбинации, но однозначная характеристика её в целом оказывается невозможной.

Для трёхфакторных токсических комбинаций нами [13, 15] впервые был предложен и успешно апробирован двухэтапный анализ. На первом этапе оцениваются все варианты КТД для каждого из трёх бинарных сочетаний, входящих в тройную комбинацию (например, для Mn+Ni, Mn+Cr, Ni+Cr в случае оценки комбинации Mn+Cr + Ni), а на втором этапе все эффекты токсического воздействия классифицируются в зависимости от того, оказывается ли на фоне действия третьего фактора тип КТД одной и той же пары веществ более неблагоприятным для организма (класс А), менее неблагоприятным для организма (класс В) или остаётся существенно не изменившимся (класс С). Примеры эффектов, отнесенных к названным классам, даны на рис. 2-4.

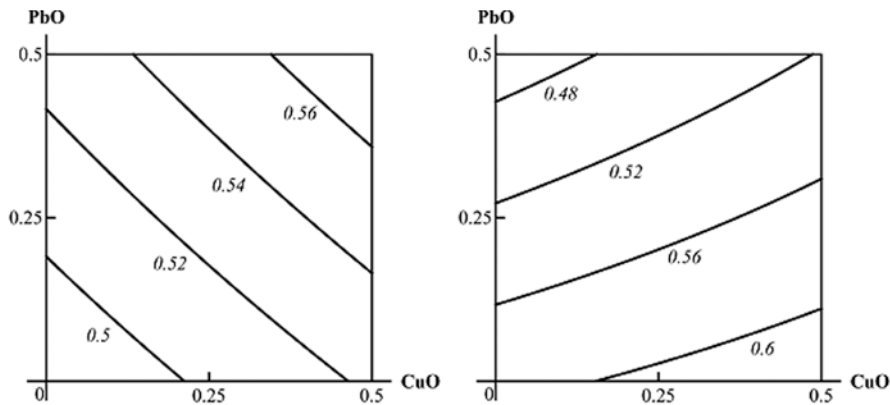
В наших экспериментах с трёхчленными комбинациями растворимых солей металлов [13] или металло-оксидных наночастиц [15] была показана удовлетворительная стабильность этой классификации. Она полностью или частично воспроизводилась при рассмотрении в качестве фонового фактора один за другим всех трёх токсических металлов, при том что вероятность случайности такого воспроизведения была чрезвычайно низка. Таким образом, для абсолютного большинства эффектов эта классификация оказалась внутренне непротиворечивой.

Однако уже при увеличении числа компонентов комбинации до 4-х и этот подход к классификации КТД реально не осуществим. Для таких многофакторных смесей наиболее целесообразно отказаться от попыток охарактеризовать сложную картину взаимовлияния всех факторов в целом, а при относительно постоян-





**Рисунок 2.** Пример трёхфакторного КТД, отнесенного к классу А: аддитивное субхроническое действие наночастиц PbO и CuO на коэффициент Де Ритиса в отсутствие третьего фактора переходит в супераддитивное на фоне действия наночастиц ZnO. Дозы CuO и PbO на осях даны в мг на крысу. Числа на кривых соответствуют величине эффекта Y [15]



**Рисунок 3.** Пример трёхфакторного КТД, отнесенного к классу В: аддитивное субхроническое действие наночастиц PbO и CuO на показатель тромбоцитоза в отсутствие третьего фактора переходит в противонаправленное на фоне действия наночастиц ZnO. Дозы CuO и PbO на осях даны в мг на крысу. Числа на кривых соответствуют величине эффекта Y [15]

**Рисунок 4.** Пример трёхфакторного КТД, отнесенного к классу С: аддитивное субхроническое действие наночастиц PbO и CuO на коэффициент фрагментации ДНК как в отсутствие третьего фактора, так и на фоне действия наночастиц ZnO. Дозы CuO и PbO на осях даны в мг на крысу. Числа на кривых соответствуют величине эффекта Y [15]

ном соотношении между компонентами – просто рассматривать каждую практически значимую смесь как особое вещество и экспериментально оценивать эффекты его действия на организм, их зависимость от суммарной дозы, безопасные уровни воздействия, эффективность биопротекторов и т. д. На основании такого изучения и могут быть предложены гигиенические нормативы типа ПДК, контролируемые по том или иному индикаторному компоненту смеси. Именно такой подход к токсикологической характеристике и гигиенической регламентации смесей постоянного или относительно постоянного состава развивался советскими токсикологами, а в последнее время и в западной литературе можно найти

высказывания в пользу “изучения токсикологии химических смесей взамен их компонентов [16].

В случае же смесей, для которых указанное соотношение существенно варьирует (что характерно для многокомпонентных загрязнений производственной и окружающей среды), мы рекомендуем выделять приоритетную двух- или трёхкомпонентную комбинацию наиболее токсичных и опасных веществ для анализа закономерностей КТД.

Выше уже были упомянуты некоторые способы количественного учёта типа КТД при решении задач санитарного контроля многокомпонентных загрязнений среды и оценки многофакторных химических рисков для здоровья, предлагаемые в официальных документах национального и международного уровней, и были отмечены существенные неопределённости этих способов и тех допущений, на которых они основаны. Наряду с этим, как мы полагаем, на практике недостаточно учитывается значение хотя и заведомо не количественного, но чрезвычайно важного аспекта использования результатов изучения КТД в рамках системы анализа и управления рисками, состоящего в ниже-

следующем. Оценивая многофакторный риск общепринятым способом суммирования однофакторных рисков, экспертиза должна принимать во внимание имеющиеся данные экспериментального и математического моделирования комбинированной токсичности. Если токсикологическими исследованиями был доказан синергизм токсического действия двух факторов по эффектам, которые могут быть отнесены к основным для определения типа КТД, или если при оценке трёхфакторной токсичности такие основные эффекты были отнесены к классу неблагоприятных класс А), то указанный способ простого сложения заведомо недооценивает суммарный риск. Если же основным типом бинарного КТД является субад-

дитивность, а основные эффекты тройного КТД отнесены к классу благоприятных (класс В), то простое суммирование однофакторных рисков, вполне вероятно, даёт более или менее завышенную оценку многофакторного.

В первом случае рекомендуется считать, что предлагаемые сценарии управления риском должны быть, насколько это осуществимо, ещё более радикальными и надёжными. Так, напри-

мер, в расчёт потребных воздухообменов производственного помещения для снижения ингаляционных экспозиций, основанный на допущении аддитивности доз, должен быть внесен дополнительный запас надёжности. Что же касается второго случая, то он позволяет считать достаточным внутренний запас надёжности профилактических мер, нацеленных на достаточную защиту от аддитивной токсичности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

1. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., Beresneva O.Yu. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. *Food Chem. Toxicol.* 2014; 64: 144-156.
2. Кацнельсон Б. А., Вараксин А. Н., Панов В. Г., Привалова Л. И., Минигалиева И. А., Киреева Е. П. Экспериментальное моделирование и математическое описание хронической комбинированной токсичности как основа анализа многофакторных химических рисков для здоровья. *Токсикологический Вестник.* 2015; 5 (134): 37-45. / Katsnelson B.A., Varaksin A.N., Panov V.G., Privalova L.I., Minigaliyeva I.A., Kireyeva E.P. Experimental modeling and mathematical description of the chronic combined toxicity as a basis of multi-factor chemical health risks analysis. *Tox. Vestnik.* 2015; 5 (134): 37-45 (in Russian).
3. Goldoni M., Johansson C. A. Mathematical approach to study combined effects of toxicants in vitro: evaluation of the Bliss independence criterion and the Loewe additivity model. *Toxicol. In vitro.* 2007; 21: 759-7
4. Yeh P.J., Hegreness M.J., Aiden A.P., Kishony R. Drug interactions and evolution of antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009; 7: 460-466.
5. Кацнельсон Б. А. Комбинированное действие химических веществ. В кн.: Курляндский Б. А., Филон В. А., ред. *Общая токсикология.* М.: Медицина; 2002: 497-520. / Katsnelson B.A. The combined action of chemicals. In: Kurlyandsky B.A., Filov V.A., eds. *General Toxicology.* Moscow: Meditsina Publishers; 2002: 497-520 (in Russian)
6. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Varaksin A.N., Kazmer J.I., Kireyeva E.P., Panov V.G. An approach to characterizing the type of combined environmental toxicity based on epidemiologically assessed exposure-response relationships. *Open Epidemiol. J.* 2010; 3: 113-122.
7. Howard G.J., Webster T.F. Contrasting Theories of Interaction in Epidemiology and Toxicology. *Environ. Health Perspect.* 2013; 121: 1-6.
8. Loewe S. The problem of synergism and antagonism of combined drugs. *Arzneimittelforschung.* 1953; 3: 285-290.
9. Meek M.E., Boobis A.R., Crofton K.M., Heinemeyer G., Kleiner J., Lund B.-O., Olin S., Pavitttranon S., Rodriguez C., Van Raaij M., Vickers C., Waight-Sharma N. Assessment of combined exposures to multiple chemicals. Assessment of cumulated exposures to multiple chemicals. In: Report of a WHO/IPCS International Workshop. World Health Organization. Geneva, 2009; 11-10.
10. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Sutunkova M.P., Valamina I.E., Beresneva O.Yu. Further development of mathematical description for combined toxicity: A case study of lead-fluoride combination. *Toxicol. Rep.* 2015; 2: 297-307.
11. Panov V.G., Varaksin A.N. Identification of combined action types in experiments with two toxicants: a response surface linear model with a cross term. *Toxicology mechanisms and methods.* 2016; 26 (2): 139-150.
12. Katsnelson B.A., Minigaliyeva I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Shur V.Y., Shishkina E.V., Valamina I.E., Makeyev O.H. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *Food Chem. Toxicol.* 2015; 86: 351-364.
13. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigaliyeva I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., Grebenkina S.V. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three-factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.
14. Minigaliyeva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Y., Shishkina E.V., Valamina I.E., Makeyev O.H., Panov V.G., Varaksin A.N., Grigoryeva E.V., Meshtcheryakova E.Y. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *Int. J. of Mol. Sci.* 2015; 16 (9): 22555-225
15. Minigaliyeva I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Shur V.Y., Shishkina E.V., Valamina I.E., Zubarev I.V., Makeyev O.H., Meshtcheryakova E.Y., Klinova S.V. In vivo toxicity of copper oxide, lead oxide and zinc oxide nanoparticles acting in different combinations and its attenuation with a complex of innocuous bio-protectors. *Toxicology.* 2017; 380: 72-93.
16. Hernandez A.F., Tsatsakis A.M. Human exposure to chemical mixtures: Challenges for the integration of toxicology with epidemiology data in risk assessment. *Food and Chem. Toxicol.* 2017; 103: 188-1

I.A. Minigaliyeva<sup>1</sup>, B.A. Katsnelson<sup>1</sup>, V.B. Gurvich<sup>1</sup>, L.I. Privalova<sup>1</sup>, V.G. Panov<sup>2</sup>, A.N. Varaksin<sup>2</sup>, M.P. Sutunkova<sup>1</sup>

## CONCERNING COORDINATION BETWEEN THE GENERALLY ACCEPTED PRACTICE OF ASSESSING HEALTH RISKS DUE TO MULTI-METALLIC EXPOSURES AND THE THEORY OF COMBINED TOXICITY.

<sup>1</sup>The Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers of Rospotrebnadzor, 620014, Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>2</sup>Institute of Industrial Ecology, the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620990, Ekaterinburg, Russian Federation

Assessment of cumulative health risks associated with the widely observed combined effects of two or more metals and their compounds to the organism has the toxicology of mixtures as its scientific basis although there is no full match between such assessment and this basis though some of the contradictions between them are of a fundamental nature. This state of things may be explained not only by simplifications characteristic of the generally recognized methodology of risk assessment but also by extreme complexity of the theory of combined toxicity, the most essential issues of which are considered by authors on the basis of literary and, mostly, their own previously published data.

**Keywords:** toxic metals, typology of combined toxicity, mathematical modeling, health risk assessment.

Материал поступил в редакцию 04.05.2017 г.

УДК 547.022.1 : 615.917

# ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ СМЕСИ ПРЕДЕЛЬНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ $C_1$ - $C_5$ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

А.С. Радиллов<sup>1</sup>, И.Е. Шкаева<sup>1</sup>,  
Х.Х. Хамидулина<sup>2,3</sup>, С.А. Солнцева<sup>1</sup>, О.С.  
Никулина<sup>1</sup>, А.И. Николаев<sup>1</sup>, В.Б. Попов<sup>1</sup>,  
Г.А. Протасова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и  
экологии человека» ФМБА России, 188663  
Ленинградская область, Всеволожский район,  
г.п. Кузьмолковский, Российская Федерация  
<sup>2</sup>ФБУЗ «Российский регистр потенциально  
опасных химических и биологических веществ»  
Роспотребнадзора, 117105, г. Москва,  
Российская Федерация

<sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия  
непрерывного медицинского образования»  
Минздрава России, 125993, г. Москва,  
Российская Федерация

Проведены экспериментальные исследования по оценке токсичности и опасности смеси предельных углеводородов  $C_1$ - $C_5$  при загрязнении атмосферного воздуха. Показано, что смесь является малотоксичной при однократном воздействии, не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки глаз,  $Li_{mac}$  смеси  $C_1$ - $C_5$  по резорбтивному эффекту установлен на уровне 25300 мг/м<sup>3</sup>, по рефлекторному эффекту – 3100 мг/м<sup>3</sup>. В хроническом непрерывном 90-суточном эксперименте при действии смеси обнаружены проявления хронической интоксикации – нарушения функционального состояния нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной систем, биохимических процессов, пороговая концентрация смеси составила 255,7 мг/м<sup>3</sup>. По итогам проведенных исследований обоснованы гигиенические нормативы (ПДКс.с., ПДКм.р.) и класс опасности смеси предельных углеводородов  $C_1$ - $C_5$  в атмосферном воздухе населенных мест.

**Ключевые слова:** предельные углеводороды; смесь; токсичность; опасность; ингаляция; одориметрия; предельно допустимая концентрация.

**Введение.** Предельные углеводороды являются одними из наиболее распространенных химических веществ, загрязняющих атмосферный воздух. Основными источниками поступления углеводородов в атмосферу являются деятельность промышленных предприятий, в том числе по переработке нефти, и постоянно растущее движение автотранспорта [1 – 3].

Анализ литературных сведений показал, что первые члены гомологического ряда алканов

(класс химических соединений, отвечающих эмпирической формуле  $C_nH_{2n+2}$ ) – метан, этан, пропан, бутан и пентан – отличаются большой стойкостью и малой химической активностью [4 – 7]. Предельные углеводороды  $C_1$ - $C_5$  являются малотоксичными веществами, относятся к группе асфиксантов, оказывают выраженное наркотическое действие. Бутан и пентан могут вызывать нарушения нервной и дыхательной систем. В настоящее время установлены сле-

**Радиллов Андрей Станиславович (Radilov Andrey Stanislavovich)**, д.м.н., проф., заведующий отделом токсикологии, заместитель директора по научной работе ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, radilov@rihophe.ru

**Шкаева Ирина Евгеньевна (Shkaeva Irina Evgenyevna)**, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела токсикологии ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, ieszkaeva@list.ru

**Хамидулина Халида Хизбулаевна (Khamidulina Khalidia Khizbulaevna)**, д.м.н., проф., директор ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора; проф., заведующий кафедрой гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 117105, г. Москва, director@rosreg.info

**Солнцева Светлана Андреевна (Solnzeva Svetlana Andreevna)**, младший научный сотрудник ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, piigrech@rihophe.ru

**Никулина Ольга Сергеевна (Nikulina Olga Sergeevna)**, младший научный сотрудник ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, piigrech@rihophe.ru

**Николаев Анатолий Иванович (Nikolaev Anatoliy Ivanovich)**, к.х.н., старший научный сотрудник ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, piigrech@rihophe.ru

**Попов Вадим Борисович (Popov Vadim Borisovich)**, д.б.н., ведущий научный сотрудник ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, piigrech@rihophe.ru

**Протасова Галина Аркадьевна (Protasova Galina Arkadievna)**, к.м.н., ведущий научный сотрудник ФГУП «НИИГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, piigrech@rihophe.ru

дующие гигиенические нормативы для атмосферного воздуха: максимальная разовая ПДК бутана – 200 мг/м<sup>3</sup>, пентана – 100 мг/м<sup>3</sup>, средне-суточная ПДК пентана – 25 мг/м<sup>3</sup> [8 – 10]. Для смеси предельных углеводородов C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> (метан, этан, пропан, бутан, пентан) ПДК в атмосферном воздухе населенных мест до настоящих исследований отсутствовали.

*Целью работы* являлось изучение токсического действия смеси предельных углеводородов C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> в условиях однократного и хронического поступления в организм и обоснование предельно допустимых концентраций для атмосферного воздуха населенных мест.

**Материалы и методы исследования.** Смесь предельных углеводородов C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> (табл.1) при температуре 20°C и нормальном атмосферном давлении представляет собой бесцветный газ с легким специфическим запахом.

Исследования проводили в соответствии с «Методическими указаниями по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест», а также с учетом других методических рекомендаций [11 – 15]. Токсикологические свойства смеси C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> изучали при ингаляционном пути поступления в организм, а также при контакте с кожными покровами в условиях однократного и повторного воздействия.

Моделирование ингаляционного воздействия смеси проведено в стальных герметичных камерах объемом 0,60 м<sup>3</sup>, снабженных приточно-вытяжной вентиляцией и освещением. Температура воздуха в камерах колебалась в пределах 18 – 23°C, относительная влажность – 60 – 85%, содержание CO<sub>2</sub> не превышало 0,07%.

Смесь подавали в камеры с помощью специально сконструированного дозатора, позволяющего точно регулировать и постоянно поддерживать заданную концентрацию смеси в течение эксперимента. Непрерывное функционирование дозатора осуществлялось под управлением компьютера типа IBM PC с по-

мощью программы, созданной на языке Visual Basic 6.0.

Дозирующее устройство состояло из управляемых программой трехходовых пневматических распределителей, эластичного баллона из латекса и трехканального делителя потока. К входному штуцеру каждого пневмораспределителя через редуктор и регулирующий вентиль присоединялся газовый баллон с соответствующим углеводородом. Выходные штуцеры пневмораспределителей объединялись последовательно, образуя общую газовую систему, замкнутую на эластичный баллон. Каждый из пневмораспределителей поочередно включался на определенное, установленное заранее экспериментально, время, в результате чего в баллоне создавалась находящаяся под избыточным давлением смесь паров углеводородов требуемого состава. Затем пневмораспределитель переключал баллон на камеры для ингаляционного воздействия, в которые газовая смесь поступала через регулируемый трехканальный делитель потока, делящий входящий поток газа в соотношении 1:10:100. Постоянство задаваемой в камерах концентрации смеси углеводородов обеспечивалось высокой стабильностью параметров работы дозатора и делителей потока.

Контроль за содержанием смеси предельных углеводородов в воздушной среде затравочных камер проводили с помощью разработанного газохроматографического метода.

О состоянии подопытных животных судили по комплексу методов, позволяющих выявить изменения на различных структурно-функциональных уровнях организма. Использовали интегральные, физиологические, гематологические и биохимические показатели. Исследовали биомаркеры повреждающего действия смесей предельных углеводородов с использованием мультикомплексного анализа, определяли метаболиты компонентов смеси.

Для изучения рефлекторного действия смеси предельных углеводородов определяли порог

Таблица 1

Состав исследуемой смеси предельных углеводородов\*

Компоненты смеси нормальных алканов C <sub>1</sub> -C <sub>5</sub> (масс. %)						
CH <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>	i-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	n-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	i-C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>	n-C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>
23	3	48	7	11	5	3

Примечание\* – Наиболее характерные соотношения углеводородов при загрязнении атмосферного воздуха.

обонятельного ощущения на волонтерах, с использованием специальной ольфакторной установки [13].

**Результаты и обсуждение.** При однократном ингаляционном воздействии установлено, что смесь предельных углеводородов  $C_1-C_5$  по параметрам острой токсичности относится к малотоксичным веществам,  $CL_{50}$  для крыс составляет 785700 мг/м<sup>3</sup>, для мышей – 690000 мг/м<sup>3</sup>. В клинической картине интоксикации преобладали признаки наркотического действия. Смесь углеводородов не оказывала раздражающего действия на слизистую оболочку глаза и кожу лабораторных животных.

С целью определения порога однократного ингаляционного действия испытывали концентрации смеси: 125000, 25300 и 5000 мг/м<sup>3</sup>. Исследование подопытных животных проводили в динамике – после 4-часовой экспозиции и через сутки после экспозиции. Показано, что однократное ингаляционное воздействие смеси  $C_1-C_5$  в концентрации 125000 мг/м<sup>3</sup> вызывало у подопытных животных изменение поведенческих реакций – угнетение двигательной активности и «норкового» рефлекса, снижение уровня болевой чувствительности ( $p < 0,05$ ), увеличение содержания тромбоцитов в периферической крови, а также изменение биохимических показателей крови (АЛТ, ЛДГ). Наименьшей концентрацией смеси предельных углеводородов  $C_1-C_5$ , при которой зарегистрированы значимые изменения физиологических и гематологических показателей, оказалась 25300 мг/м<sup>3</sup>. Концентрация смеси 5000 мг/м<sup>3</sup> явилась действующей по всем изученным показателям. На основании полученных экспериментальных данных концентрация 25300 мг/м<sup>3</sup> принята в качестве порога однократного ингаляционного действия ( $Limac$ ) смеси предельных углеводородов  $C_1-C_5$  по резорбтивному эффекту.

В хроническом эксперименте подопытные животные подвергались ингаляционному непрерывному 90-суточному воздействию смеси предельных углеводородов  $C_1-C_5$  в концентрациях: 1250, 255,7 и 50 мг/м<sup>3</sup>. Обнаружено, что длительное воздействие смеси в концентрации 1250 мг/м<sup>3</sup> вызывало у подопытных крыс нарушение функционального состояния ЦНС, о чем судили по динамике поведенческих тестов. При изучении ориентировочно-исследовательской реакции животных выявлено угнетение активности «норкового» рефлекса на 62,7% от контрольного уровня через 7 суток,  $p < 0,05$ , на 23,8%, – через 14 суток опыта, и устойчивое увеличение данного показателя, начиная с 30 суток эксперимента (на 71,4% – 60,5%), по сравнению с контрольной группой крыс,  $p < 0,01$ . Аналогичной динамикой характеризовался «вертикальный» компонент

двигательной активности подопытных крыс – снижение на 55,2% – 29,6% в течение 14 суток опыта, сменяющееся увеличением на 32,9% от контроля к 90 суткам эксперимента.

У этих же подопытных животных регистрировали снижение частоты дыхания на протяжении всего эксперимента (через 30 суток – на 28,6 % ниже контрольного уровня, на 90 сутки – на 12,8 %), при этом достоверные изменения данного показателя ( $p < 0,05$ ) наблюдали лишь в течение первых 30 суток воздействия смеси. При изучении функционального состояния миокарда отмечено достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение частоты сердечных сокращений через 14, 30 и 90 суток эксперимента.

В результате исследования биохимических процессов в сыворотке крови подопытных животных на 45 сутки эксперимента обнаружено угнетение лактатдегидрогеназы на 43,4% ( $p < 0,05$ ), с одновременным снижением содержания молочной кислоты (на 37,1% по сравнению с контролем), что может быть связано с изменениями углеводного обмена. К концу хронического эксперимента регистрировали снижение активности щелочной фосфатазы крови (на 28,7% по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ ).

Изменения показателей кислотно-основного равновесия крови подопытных животных достоверно не отличались от контрольных, однако, заслуживает внимания тенденция к снижению содержания в крови оснований внеклеточной жидкости ( $BE_{ecf}$ ) на 33,3 % – на 45 сутки, на 32,4 % – на 90 суток опыта при одновременной тенденции к повышению парциального давления кислорода (на 26,8 % по сравнению с контролем). Учитывая, что рН крови подопытных животных не изменялось, отмеченные сдвиги (дефицит буферных оснований) могут свидетельствовать о начинающемся компенсированном ацидозе.

С целью изучения маркеров повреждающего действия смеси предельных углеводородов в сыворотке крови подопытных животных определяли концентрацию следующих цитокинов: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ . В результате у подопытных крыс отмечена тенденция к повышению концентрации IL-6 и IFN- $\gamma$ , что может быть связано с системным аутоиммунным ответом. При этом нельзя исключить наличие связи между воздействием смеси  $C_1-C_5$  и изменением цитокинового профиля у подопытных животных.

Проявлений генотоксического действия (оценка с использованием метода ДНК-комет) смеси углеводородов  $C_1-C_5$  на клетки костного мозга крыс не выявлено. Количество хромосомных аберраций, по которым оценивали мутагенный эффект, в клетках костного мозга

животных после воздействия смеси  $C_1-C_5$  в концентрации  $1250,0 \text{ мг/м}^3$  статистически не превышало аналогичный показатель в контроле.

В результате морфологических исследований у отдельных крыс наблюдали вакуолизацию цитоплазмы гепатоцитов и эпителия проксимального отдела канальцев почек.

В плазме крови подопытных животных обнаружены метаболиты компонентов смеси (бутанол-1, трет-бутанол и бутанон) [16].

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о проявлении токсического резорбтивного эффекта при хроническом непрерывном ингаляционном воздействии смеси предельных углеводородов  $C_1-C_5$  в концентрации  $1250 \text{ мг/м}^3$ .

У подопытных животных, подвергавшихся непрерывному 90-суточному ингаляционному воздействию смеси предельных углеводородов в концентрации  $255,7 \text{ мг/м}^3$ , регистрировали менее выраженные изменения функционального состояния ЦНС и отдельных биохимических показателей. Длительное воздействие смеси углеводородов  $C_1-C_5$  в концентрации  $50,2 \text{ мг/м}^3$ , не вызывало достоверных изменений ни по одному из изученных показателей. На основании полученных экспериментальных данных концентрация смеси  $C_1-C_5$   $255,7 \text{ мг/м}^3$  принята в качестве пороговой,  $50,2 \text{ мг/м}^3$  – недействующей в хроническом ингаляционном эксперименте.

Таким образом, в результате комплекса проведенных исследований получены следующие параметры токсикометрии смеси:  $CL_{50} = 785700 \text{ мг/м}^3$ ,  $Limac = 25300 \text{ мг/м}^3$ ;  $Limch = 255,7 \text{ мг/м}^3$ ;  $Zac = CL_{50} / Limac = 185700 / 5250 = 31,0$ ;  $Zch = Limac / Limch = 25300 / 255,7 = 98,9$ ;  $Zbiol = CL_{50} / Limch = 785700 / 255,7 = 3072,7$ .

С учетом полученных параметров определен интегральный показатель опасности смеси «В», равный 0,44. В соответствии с классификацией опасности химических загрязнителей атмосферного воздуха и величиной интегрального показателя опасности смесь предельных угле-

водородов  $C_1-C_5$  отнесена к 3 классу опасности.

Расчетная недействующая концентрация смеси предельных углеводородов  $C_1-C_5$  (с учетом коэффициента запаса:  $K_{зап} = 9 \times 0,44 + 1 = 4,96$ ) составила  $51,5 \text{ мг/м}^3$ . В хроническом эксперименте установлена фактическая недействующая концентрация смеси  $50,2 \text{ мг/м}^3$ .

На основании анализа литературных сведений и результатов проведенных экспериментальных исследований, определен безопасный уровень смеси предельных углеводородов  $C_1-C_5$  по резорбтивному эффекту при длительном круглосуточном воздействии на организм (среднесуточная предельно допустимая концентрация, ПДКс.с) –  $50,0 \text{ мг/м}^3$ .

При изучении рефлекторного действия смеси  $C_1-C_5$  определена пороговая концентрация по обонятельному ощущению волонтеров, которая соответствует 16% обнаружения запаха –  $ЕС_{16}$ , на уровне  $3100 \text{ мг/м}^3$ . Согласно существующим методическим принципам регламентирования [13] для веществ, загрязняющих атмосферный воздух и обладающих выраженным запахом или раздражающим действием, устанавливается допустимая концентрация по рефлекторному эффекту. На основании зависимости вероятности обнаружения ольфактивной реакции от величины концентрации смеси с использованием коэффициента запаса, рассчитанного с учетом показателей реальной и потенциальной опасности, получена величина ПДКм.р.  $620 \text{ мг/м}^3 \sim 600 \text{ мг/м}^3$ . Однако, учитывая установленные максимальные разовые ПДК для отдельных компонентов смеси  $C_1-C_5$  (для бутана –  $200 \text{ мг/м}^3$ ), рекомендована в качестве максимальной разовой ПДК смеси предельных углеводородов  $C_1-C_5$  величина  $200 \text{ мг/м}^3$ .

**Заключение.** По итогам проведенных экспериментальных исследований обоснованы и утверждены на государственном уровне гигиенические нормативы смеси предельных углеводородов  $C_1-C_5$  в атмосферном воздухе населенных мест (табл. 2).

Таблица 2

### Гигиенические нормативы смеси предельных углеводородов $C_1-C_5$ в атмосферном воздухе населенных мест

Гигиенические нормативы	Величина ГН, $\text{мг/м}^3$	Дата утверждения
среднесуточная предельно допустимая концентрация (ПДКс.с)	50,0	Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 146 от 30.08.16, зарегистрирован в Минюсте 13.09.16 № 43648.
максимальная разовая предельно допустимая концентрация (ПДКм.р.)	200,0	

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Линченко С.Н. Влияние неблагоприятных экологических факторов на здоровье человека и проблемы его коррекции. Успехи современного естествознания. 2010; 4: 76 – 77.
2. Ревич Б.А. Загрязнение окружающей среды и здоровье населения. М.: МНЭПУ, 2001.
3. Давыдова С.Л., Тагасов В.И. Нефть как топливный ресурс и загрязнитель окружающей среды. М.: РУДН, 2004.
4. Румянцев А.П. Алканы. В кн.: Филлов В.А., ред. Вредные химические вещества. Углеводороды. Галогенпроизводные углеводородов. СПб: Химия; 1990: 29 – 40.
5. Pohanish R.P. Sittig's handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens. 6nd ed. Oxford, USA; 2012.
6. McKee R. H., Herron D., Saperstein M., et al. Toxicological Properties of Petroleum Gases. International Journal of Toxicology. 2014; 33 (Suppl. 1): 28 – 51.
7. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду: Р 2.1.10.1920-04. Утверждено Главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г. Онищенко 05.03.2004 г. – М. – 2004. – 116 с.
8. ГН 2.1.6.1338-03. Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. Гигиенические нормативы. – М., 2003 г. – 84 с.
9. Онищенко Г.Г. О нормировании углеводородов в атмосферном воздухе. Инф. письмо. – № 01/9793-9-32 от 13.07.2009 г.
10. А.А. Каспаров, И.В. Саноцкий, ред. Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду – М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1986.
11. Саноцкий И.В., Уланова И.П. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. – М., 1975.
12. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. Л.: Медицина, 1986.
13. Методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест (№ 4681 – 88). – М., 1989. – 110 с.
14. Методические рекомендации по ускоренному обоснованию предельно допустимых уровней загрязнения кожного покрова вредными веществами (№10-92). – М., 1992. – 20 с.
15. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования: МР 2166-80. – М.: Киев, 1980. – 46 с.
16. Уколов А.И., Мигаловская Е.Д., Радиллов А.С. Хроматомакс-спектрометрическое исследование плазмы крови крыс, подвергавшихся воздействию алифатических углеводородов с числом атомов углерода от 1 до 5. Биомедицинский журнал Medline.ru. 2015; Т. 16: 329 – 334.

## REFERENCES:

1. Linchenko S.N. The influence of unfavorable environmental factors on human health and problems of its correction. Advances in modern natural science. 2010; 4: 76-77 (in Russian).
2. Revich B.A. Pollution of the environment and public health. Moscow: MNEPU, 2001(in Russian).
3. Davydova S.L. Tagasov V.I. Oil as a fuel resource and environmental pollutant. Moscow: RUDN, 2004(in Russian).
4. Rumyantsev A.P. Alkane. In: Filov VA, ed. Harmful chemicals. Hydrocarbons. Halogen derivatives of hydrocarbons. St. Petersburg Khimiya; 1990: 29-40(in Russian).
5. Pohanish R.P. Sittig's handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens. 6nd ed. Oxford, USA; 2012.
6. McKee R. H., Herron D., Saperstein M., et al. Toxicological Properties of Petroleum Gases. International Journal of Toxicology. 2014; 33 (Suppl. 1): 28-51.
7. Guidelines for assessing health risks to public when exposed to pollutants: P 2.1.10.1920-Approved by the State Chief Sanitary Physician of the Russian Federation G.G. Onischenko; 05.03.2004 – M. – 2004. – 116 p. (in Russian).
8. GN 2.1.6.1338-The maximum permissible concentrations (MACs) of pollutants in the atmospheric air of residential areas. Hygien standards. – M., 2003 – 84 p. (in Russian).
9. Onishchenko G.G. About regulation of hydrocarbons in the atmospheric air . Inf. letter. – No. 01 / 9793-9-32 of 13.07.2009(in Russian).
10. Kasparov. A.A. , Sanotsky I.V. , ed. Toxicometry of chemicals polluting the environment – Moscow: Center for International Projects of the State Committee for Science and Technology, 19(in Russian).
11. Sanotsky I.V., Ulanova I.P. Criteria for harmfulness in hygiene and toxicology when assessing the hazard of chemical compounds. – M., 19(in Russian).
12. Golikov S.N., Sanotsky I. V., Tiyunov L.A. General mechanisms of toxic effects. L. : Medicine, 19(in Russian).
13. Methodological guidelines for justifying maximum allowable concentrations (MAC) of pollutants in the atmospheric air of residential areas (No. 4681 – 88). – M., 1989. – 110 p. (in Russian).
14. Methodical recommendations for the use of accelerated substantiation of maximum permissible levels of skin contamination by harmful substances (№ 10-92). – M., 1992. – 20 p. (in Russian).
15. Methodical recommendations for the use of animal behavioral reactions in toxicological studies for the purposes of hygienic regulation: MR 2166-80. – Moscow: Kiev, 1980. – 46 p. (in Russian).
16. Ukolov A.I., Migalovskaya E.D., Radilov A.S. Chromatography-mass spectrometric study of blood plasma of rats exposed to aliphatic hydrocarbons with the number of carbon atoms from 1 to 5. Biomedical Journal Medline.ru. 2015; V. 16: 329-3(in Russian).

A.S. Radilov<sup>1</sup>, I.E. Shkaeva<sup>1</sup>, Kh.Kh.Khamidulina<sup>2,3</sup>, S.A. Solntseva<sup>1</sup>, O.S. Nikulina<sup>1</sup>, A.I.Nikolaev<sup>1</sup>, V.B Popov<sup>1</sup>, G.A. Protasova<sup>1</sup>

## TOXICITY ASSESSMENT AND EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF HYGIENE REGULATORY STANDARDS FOR THE MIXTURE OF C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> SATURATED HYDROCARBONS IN THE ATMOSPHERIC AIR OF RESIDENTIAL AREAS

<sup>1</sup>Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663, settlement Kuzmolovsky Vsevolozhsky district, Leningrad Region, Russian Federation

<sup>2</sup>Russian Register for Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, 117105 Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 125993, Moscow, Russian Federation

Experimental studies of toxicity and hazard assessment of a mixture of C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> saturated hydrocarbons as pollutants of atmospheric air were performed. It was shown that the mixture exhibits a low toxicity at a single exposure and does not irritate skin and eye mucous membranes. The Limac of the C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> mixture was set at 25300 and 3100 mg/m<sup>3</sup> by the resorptive and reflex effects respectively. After 90-day chronic continuous exposure to the mixture, symptoms of chronic intoxication, specifically functional disorders in the nervous, cardiovascular, and respiratory systems and in biochemical processes, were revealed. The threshold concentration of the mixture was estimated at 255.7 mg/m<sup>3</sup>. The experimental results were used to substantiate hygiene regulatory standards (MAC average day dose, and MAC maximum one-time dose) and hazard class for the mixture of C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> saturated hydrocarbons in the atmospheric air of residential areas.

**Keywords:** saturated hydrocarbons, mixture, toxicity, hazard, hygiene regulatory standards, odorimetry, maximum allowable concentration (MAC)

Материал поступил в редакцию 27.06.2017 г.

УДК 615.28 :615.03

# ВЛИЯНИЕ ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИХ РИТМОВ НА ТОКСИЧНОСТЬ ИЗОНИАЗИДА И РИФАМПИЦИНА ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ПРИМЕНЕНИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА НА КРЫСАХ

К.И. Усов<sup>1,2</sup>, Т.А. Гуськова<sup>3</sup>,  
Г.Г. Юшков<sup>1</sup>, А. В. Машанов<sup>1</sup>,  
А.А. Гущина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ Биофизики, лаборатория токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, г. Ангарск, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России», кафедра фармакологии, 664003, г. Иркутск, Российская Федерация

<sup>3</sup>Некоммерческое партнерство содействия здравоохранению «Научный центр контроля качества», 115191, г. Москва, Российская Федерация

Статья содержит результаты экспериментального токсикологического исследования противотуберкулезных препаратов: «Изониазид» и «Рифампицин» в условиях их комбинированного введения, которые позволили установить: антагонистический эффект рифампицина к летальным дозам изониазида; факт снижения токсичности комбинации изониазида и рифампицина при введении препаратов в вечернее время суток.

**Ключевые слова:** противотуберкулезный препарат; изониазид; рифампицин; хронобиология; хронобиологические ритмы; рациональная химиотерапия; экспериментальные исследования.

**Введение.** Современный режим химиотерапии туберкулеза должен включать не менее двух противотуберкулезных препаратов (ПТП), к которым микобактерии (*Mycobacterium tuberculosis*) сохраняют чувствительность [7]. В противном случае весьма вероятно неудача лечения из-за развития лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза. Таким образом, стоит отметить, что комбинации противотуберкулезных препаратов подбирают обычно по противомикробной активности без учета их токсических свойств. Длительность химиотерапии ПТП в среднем составляет от 6 до 16 месяцев [8, 27-28], что неизбежно приводит к проявлению нежелательных реакций, в том числе токсического характера [3,15]. Определение токсичности каждого из ПТП в отдельности сопряжено с определенными трудностями, поскольку лечение почти всегда проводится сочетаниями нескольких из них, а также с применением комбинированных ПТП с фиксированными

дозами активных веществ в составе единой лекарственной формы [7,25-26]. Известно, что комбинированное применение лекарственных средств может приводить к усилению, ослаблению или появлению новых фармакологических эффектов и нежелательных реакций организма. При оценке безопасности совместного применения лекарственных средств, в условиях токсикологического эксперимента, приоритетом должно выступать изучение их взаимодействия, а «изолированный» подход к определению токсичности каждого препарата (каждого активного вещества лекарственного средства) должен реализовывать функцию «позитивного» контроля. Взаимодействие с точки зрения токсикологии – это количественное и/или качественное изменение прогнозируемого суммарного спектра токсичности лекарственных средств при их совместном (одновременном или последовательном) применении [4].

**Усов Константин Ильич (Usov Konstantin Ilich)**, к.б.н., доцент, заведующий лабораторией токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665830, г. Ангарск, konstausov@yandex.ru

**Гуськова Татьяна Анатольевна (Guskova Tatjana Anatolievna)**, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., проф., заместитель Председателя Всероссийской общественной организации токсикологов, Некоммерческое партнерство содействия здравоохранению «Научный центр контроля качества», tagus@rambler.ru

**Юшков Геннадий Георгиевич (Jushkov Gennadij Georgievich)**, к.м.н., доцент, научный сотрудник лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, г. Ангарск, prof\_ushkov@mail.ru

**Машанов Антон Владимирович (Mashanov Anton Vladimirovich)**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, г. Ангарск, mashan\_gir@mail.ru

**Гущина Альбина Анатольевна (Gushchina Albina Anatolevna)**, научный сотрудник лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, г. Ангарск, alla\_gushchina@bk.ru



Согласно классификации Международного союза по борьбе с туберкулезом «Изониазид» и «Рифампицин» относятся к препаратам первого ряда и являются наиболее эффективными в лечении различных форм туберкулеза [16]. Применение препарата «Изониазид» сопряжено с возможностью возникновения побочных реакций, в том числе токсического характера (преимущественно нейротоксичность; реже: гепато-, нефро-, кардиотоксичность и др.) [3,14,28]. Препарат «Рифампицин» является ключевым компонентом современной химиотерапии туберкулеза и единственным наиболее важным препаратом при краткосрочном режиме лечения. Побочные реакции на прием рифампицина возникают значительно реже, и чаще всего проявляются при прерывистой схеме лечения в виде синдромов: абдоминального синдрома (боли в эпигастрии, тошнота, рвота, диарея); «кожного» синдрома, проявляющегося гиперемией кожи и/или зудом, с появлением сыпи или без высыпаний, затрагивающей кожу лица и волосистой части головы; «гриппоподобного» синдрома в виде повышения температуры, озноба, общей слабости, головной боли и болей в костях; респираторного синдрома, проявляющегося одышкой и иногда сопровождающегося коллапсом и шоком; также возможно проявление гепатотоксичности, пурпуры и др. [10,28]. Эти побочные реакции напрямую отражаются на состоянии соматического и психического здоровья человека, находящегося как на этапе химиотерапии, так и после завершения курса (курсов) лечения препаратами. В некоторых случаях наличие нежелательных реакций, возникающих при приеме ПТП, отрицательно влияет на принцип непрерывности организации химиотерапии туберкулеза и зачастую приводит к её срыву, что провоцирует микобактерии к развитию лекарственной резистентности [17].

При совместном применении изониазида и рифампицина следует учитывать особенности их биотрансформации. Изониазид считается классическим примером препарата, вызывающего идиосинкразический гепатит. У 15-20 % получавших изониазид пациентов отмечалось повышение активности сывороточных трансаминаз, но лишь у 1 % развивается тяжелый гепатит. Факторами риска являются голодание, прием индукторов цитохрома P450 (рифампицина, алкоголя, прогестерона и др.), возрастные изменения печеночного метаболизма и индивидуальная предрасположенность [11, 18]. Известно, что изониазид индуцирует изофермент цитохрома P450 2E1, а для рифампицина характерен «рифампицин-дексаметазоновый» тип индукции изоферментов цитохрома P450 1A1, 3A4, 2B6 [10]. Эти особенности трансформации изониазида и рифампицина могут приводить к усилению прояв-

ления нежелательных реакций при проведении режима химиотерапии с использованием сочетанного применения ПТП (изониазид + рифампицин), с повышением риска проявления у медленных ацетиляторов [18].

Действие лекарственного вещества на организм отличается высокой вариабельностью и зависит от множества как внутренних, так и внешних факторов, одним из которых является фактор времени [29]. Наиболее значимыми для лекарственной токсикологии являются суточные или циркадные ритмы. Зависимость токсичности лекарственных препаратов от времени суток отмечена для препаратов различных фармакологических групп. [4-6,9]. Полученные нами ранее экспериментальные данные [23] свидетельствуют о влиянии хронобиологических факторов на токсичность изониазида при пероральном введении крысам. При введении изониазида в вечерние часы токсичность его была достоверно ниже, чем при введении препарата в утреннее время, установленный феномен определяет актуальность настоящего исследования. При разработке рациональных схем лекарственной терапии туберкулеза важно учитывать хронобиологические ритмы чувствительности организма к препаратам, что позволит улучшить их переносимость, и тем самым повысить эффективность лечения.

*Цель работы:* оценить клинику острого отравления и продолжительность жизни крыс, изучить возможность кумуляции при совместном введении противотуберкулезных препаратов «Изониазид» и «Рифампицин» в утренние и вечерние часы.

**Материалы и методы исследования.** В соответствии с действующими нормативными документами и методическими рекомендациями, принятыми на территории РФ для проведения экспериментальных токсикологических исследований, а также на основе многолетнего экспериментального опыта сотрудников лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики ФГБОУ ВО «АнГТУ» по изучению ПТП, в качестве экспериментально-биологической модели были выбраны белые нелинейные крысы (самцы, самки) [20-21]. Критериями включения животных в эксперимент являлись: заключение Службы ветеринарии Иркутской области, отсутствие видимых проявлений заболеваний, однородность по массе тела, в ряде случаев – по анализу периферической крови и некоторым другим показателям в соответствии с принятыми в лаборатории стандартными операционными процедурами и паспортом состояния лабораторных животных. Все животные содержались в условиях специализированной экспериментально-биологической клиники (вивария) (ветеринарное удостоверение 238 № 0019817).

Эксперименты были проведены в соответствии с этическими требованиями по работе с экспериментальными животными, изложенными в следующих нормативно-правовых документах: «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.), «Правила надлежащей лабораторной практики» (приложение к приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.) и разрешены локальным этическим комитетом.

Параметры острой токсичности изониазида, рифампицина и комбинации изониазида и рифампицина при совместном введении устанавливали по методу Кербера [13], на белых крысах массой тела 180-200 г. Препарат «Изониазид» (форма выпуска: таблетки, 0,3 г, производства ОАО «Московское производственное химико-фармацевтическое объединение им. Н.А. Семашко», г. Москва) испытывали в дозах  $0,6 \div 2,4$  г/кг с шагом наращивания дозы на 0,1 г. Препарат «Рифампицин» (форма выпуска: капсулы, 0,15 г, производства РУП «Белмед-препараты», г. Минск) испытывали в дозах  $6,0 \div 24$  г/кг с шагом наращивания дозы на 1 г. Изониазид и рифампицин вводили однократно, однако по технологическим (количественным) причинам однократное введение рифампицина осуществлялось дробно в течение 5 часов, начиная с 10 ч (утра) и с 22 ч (вечера). Для корректного сравнения полученных данных (неколичественные причины), формировали группу подопытных крыс с дробным введением ожидаемой среднесмертельной дозы изониазида (240 мг/кг в 10 ч 00 мин утра и 280 мг/кг в 22 ч 00 мин вечера, на 1 введение с интервалом 1 час).

Дробное введение рифампицина представляло собой установление ожидаемой  $DL_{50}$  рифампицина, разделенное на 5 введений, на каждое из которых приходилось по  $1/5$  от предполагаемой  $DL_{50}$ . Интервал между введениями составлял 1 час. Из-за технологических и количественных затруднений при введении изучаемых доз рифампицина в эксперименте по определению параметров острой токсичности комбинации изониазида и рифампицина, совместное введение представляло собой дробное введение  $1/5$  от установленных нами ранее [24]  $DL_{50}$  для изониазида (240 мг/кг на 1 введение) и рифампицина (3800 мг/кг на 1 введение), разделенное на 5 введений, с интервалом 1 час. Рандомизацию животных на группы проводили по принципу диапазона доз и полу. Было сформировано 10 групп животных для введения в 10 ч 00 мин утра и 10 групп животных для введения в 22 ч 00 мин вечера. Выбор времени введения лекарственных средств был обоснован удобством их применения человеком в утренние и вечерние часы суток, а также проведенными ранее исследованиями [5, 19]. Каждая группа состояла из 12 крыс ( $n = 6$  М,  $n = 6$  F) и представляла отдельную серию эксперимента.

При изучении кумуляции животным ежедневно, внутрижелудочно вводили  $1/10$  от  $DL_{50}$ : первой серии – препарат «Изониазид», второй серии – препарат «Рифампицин», третьей серии – вводили изониазид в сочетании с рифампицином. Для каждой из доз препарата были сформированы две группы животных: одной подопытной группе животных ( $n = 10$  М,  $n = 10$  F) вводили в 10 ч 00 мин утра, второй – ( $n = 10$  М,  $n = 10$  F) – в 22 ч 00 мин вечера. Наряду с подопытными группами были сформированы контрольные группы, которым вводили воду в эквивалентном объеме подопытных групп крыс, и группа интактных животных. Все эксперименты проведены в зимний период.

Во всех экспериментах животным вводили изониазид и рифампицин, внутрижелудочно, *per os*, в виде суспензии с дистиллированной водой с помощью металлического атравматичного зонда. Дозирование проводили по количеству активного вещества: изониазида в таблетке, рифампицина в капсуле, индивидуально для каждого подопытного животного с учетом ежедневного мониторинга массы тела, определяемой ежедневно перед введением препаратов. Перед введением препаратов таблетки и капсулы растерлись в ступке. Однократный объем вводимой суспензии для крыс не превышал 5 мл, максимальная продолжительность введения не превышала 6 часов [22]. Наблюдение за животными вели в течение 14 суток [21].

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики, реализованные в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2007, входящем в состав лицензионного пакета офисных приложений для комплексной обработки данных Microsoft Office 2007 (Microsoft Co., США); правообладатель лицензии ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет». Вычисляли среднее арифметическое значение ( $M$ ), стандартную ошибку среднего арифметического значения ( $m$ ), производили оценку значимости различий средних величин по  $t$ -критерию. Методики расчета показателей соответствуют общепринятым, изложенным в руководстве по математической статистике для медико-биологических исследований [2].

**Результаты и обсуждение.** Полученные данные токсикометрии острого отравления при однократном введении  $DL_{50}$  препарата «Изониазид» и «Рифампицин» в утренние и вечерние часы суток приведены в таблице 1.

При сравнении установленных величин  $DL_{50}$ , приведенных в таблице 1, критерий  $t$  (коэффициент достоверности) более или равен 2 ( $t \geq 2$ ), что соответствует вероятности безошибочного прогноза  $P$ , равном или более 95 % ( $P \geq 95$  %), следовательно, различия можно считать статистиче-

Таблица 1

**Данные токсикометрии исследуемых препаратов в зависимости от времени и дробности их введения per os DL<sub>50</sub> (n = 12) в каждой подопытной группе)**

Одноразовое и дробное введение препаратов в дозе DL <sub>50</sub>	Время введения препаратов (00:00 – часы минуты)	DL <sub>50</sub> , мг/кг		Класс опасности*	Степень токсичности**
		Крысы М	Крысы F		
Изониазид (одноразовое введение)	10:00 (утро) (1)	1233 ± 43	1250 ± 38	3	4
	22:00 (вечер) (1)	1375 ± 38	1367 ± 38		
Изониазид (дробное введение)	10:00 (утро) (2)	960 ± 90	920 ± 74		
	22:00 (вечер) (2)	1280 ± 97	1243 ± 105		
Рифампицин (дробное введение)	10:00 (утро) (3)	19000 ± 434	15250 ± 434	4	5
	22:00 (вечер) (3)	19000 ± 434	16167 ± 434		
Коэффициент достоверности (t) между экспериментальными группами	t (1 утро-1 вечер) = 2,5 (M); t (1 утро -1 вечер) = 2,2 (F); t (1 утро -2 утро) = 2,7 (M); t (1 утро -2 утро) = 3,9 (F); t (1 вечер -2 вечер) = 0,9 (M); t (1 вечер -2 вечер) = 2,0 (F); t (2 утро -2 вечер) = 2,4 (M); t (2 утро -2 вечер) = 2,5 (F); t (3 утро -3 вечер) = 0 (M); t (3 утро -3 вечер) = 1,5 (F); t (3 утро -3 утро) = 6,1 (M-F); t (3 вечер -3 вечер) = 4,6 (M-F).				

Примечание: \* – по классификации опасности химических веществ: 3-й класс – умеренно опасные, 4-й класс – малоопасные (ГОСТ 12.007-76\*). \*\* – по степени токсичности (Hodge and Sterner) оценочное понятие: 4 – малотоксично, 5 – практически нетоксично [1].

ски достоверными. Анализ полученных данных токсикометрии острого отравления изониазидом (таблица 1), как при одноразовом, так и при дробном введении препарата (длительность дробного введения не более 6 часов) показал статистически значимые различия величин среднесмертельных доз изониазида, определяемых в утренние и вечерние часы введения. Чувствительность животных была статистически достоверно выше в утренние часы введения изониазида вне зависимости от дробности перорального введения препарата (табл. 1). Процентное повышение DL<sub>50</sub> при введении в 22 ч 00 мин от DL<sub>50</sub> к величинам дозы, установленным при введении препарата в 10 ч 00 мин для крыс-М составило 12 % (одноразовое введение), 33 % (дробное введение), для крыс-F – 9 % (одноразовое введение), 35 % (дробное введение). Это подтверждает установленный нами ранее феномен влияния суточных (циркадных) ритмов на токсичность изониазида, в направлении повышения среднесмертельной дозы изониазида, при его введении крысам в 22 ч

00 мин [23]. Дробное введение изониазида приводило к статистически достоверному повышению токсичности, по отношению к установленным среднесмертельным дозам изониазида в условиях одноразового ее введения (таблица 1). Введение препарата «Рифампицин» в 10 ч 00 мин утра и в 22 ч 00 мин вечера не приводило к изменению величин DL<sub>50</sub>, что свидетельствовало об отсутствии эффекта влияния циркадного ритма на токсичность препарата, оцениваемого по летальному эффекту. Чувствительность крыс-самок к дробному введению DL<sub>50</sub> рифампицина была статистически достоверно выше по сравнению с дозой, установленной для крыс-самцов (табл. 1). В отличие от клинической картины острого отравления изониазидом [24], дробное введение изониазида в дозе 240 мг/кг (1/5 от DL<sub>50</sub>) с интервалом 1 час (в течение 5-6 часов), до достижения установленной среднесмертельной дозы приводило к временной пролонгации проявления фармакодинамических признаков отравления (табл. 2). В фазу двигательного возбуждения у 80 %

крыс развивалась саливация после (и во время) 2-3 дробного введения, которая усиливалась при последующих введениях изониазида, у 30 % регистрировали экзофтальм. Появление хромодакриарреи (наличие красных порфириновых корочек вокруг глаз), отсутствие рефлекса при перемещении животного на спину, арефлексия – свидетельствовало о приближении наступления биологической смерти. Смерть наступала в состоянии судорог, без вхождения животных в состояние «изониазидовой» комы.

В клинике острого отравления рифампицином четко прослеживалось две фазы отравления: фаза двигательного торможения, фаза двигательного возбуждения, лихорадки (озноба). Фазы острого отравления рифампицином, по сравнению с фазами отравления изониазидом, носили пролонгированный характер проявления, что объяснимо различиями в химии, фармакокинетике и фармакодинамике препарата. Фаза двигательного торможения визуально определялась уже к концу первого часа после введения  $1/5$  от  $DL_{50}$  рифампицина, при этом у крыс проявлялось групповая коммуникация двигательного торможения (все подопытные крысы собирались в одном общем месте и сидели единой группой, практически неподвижно), со стороны глазных симптомов – экзофтальм (80-90 % случаев), наблюдались первые признаки окрашивания под действием препарата мочи, ушей, хвоста. Последующие введения  $1/5$  от  $DL_{50}$  рифампицина до достижения среднесмертельной дозы постепенно приводили к «разрыву» групповой коммуникации подопытных крыс (животные размещались обособленно друг от друга по всей площади клетки) и усилению угнетения, которое проявлялось снижением или практически полным отсутствием локомоций, эпизодической прострацией, со стороны функции дыхания – признаками диспноэ, со стороны глазных симптомов – усилением экзофтальма. Моча, фекалии, глазные яблоки, уши, хвост были окрашены в цвет рифампицина, что свидетельствовало о развитии признаков материальной кумуляции. Гипертонус мышц тела крыс постепенно сменялся гипотонусом, реакция на внешние раздражители (свет, звук) была слабая или отсутствовала. Снижение рефлекса сохранения нормального положения тела при перемещении на спину определялось только у 30 % крыс в группе. Фаза двигательного возбуждения наступала уже после окончания дробного введения среднесмертельной дозы рифампицина (через 6 ч после начала введения). Первыми определяемыми симптомами были фрагментарные кратковременные вздрагивания всего тела (как при ознобе), при этом у животных возобновлялось стремление к передвижению, поза тела во время попыток движения была неустойчивая.

Для этого промежутка времени было характерно общее локомоторное беспокойство подопытных животных. Далее наблюдалось усиление дрожи, визуально напоминающей сильный лихорадочный озноб, хвост крыс был напряжен и выпрямлен. Лихорадочная дрожь (тремор) крыс имела прерывистый, фрагментарный и быстро возобновляемый характер проявления. Диспноэ, определяемое в фазу торможения, сменилось в фазу двигательного возбуждения на тахипноэ. В поведении животных отмечалась вторичная по проявлению групповая коммуникация (крысы наползали друг на друга), но за несколько минут до наступления смерти крыс занимали обособленное положение. Биологическая смерть наступала не позднее первых суток, в состоянии лихорадки (дрожи) переходящей в кратковременные конвульсии с асфиксией.

В группах динамического контроля животные получали дробное (на 1 введение приходилось не более 5 мл воды для животных с массой тела 200 г), эквивалентные подопытным группам крыс количество дистиллированной воды. Введенные крысам эквивалентные объемы воды не вызывали эффектов гипергидратации и не приводили к летальности.

Средняя продолжительность фаз локомоторного торможения и возбуждения при отравлении изониазидом и рифампицином, средняя продолжительность жизни погибших животных за время наблюдения представлена в таблице 2.

Введение изониазида, разделенное на 5 введений, начиная, с 22 ч 00 мин вечера приводило к статистически достоверному увеличению средней продолжительности жизни крыс по сравнению с данными, полученными в условиях утреннего введения препарата. Увеличение средней продолжительности жизни достигалось за счет пролонгации во времени фаз двигательного торможения и возбуждения, что свидетельствовало о влиянии циркадного ритма на время жизни в условиях дробного введения среднесмертельной дозы. Введение рифампицина крысам в установленной  $DL_{50}$ , в 10 ч 00 мин утра и 22 ч 00 мин вечера не приводило к статистически достоверному изменению средней продолжительности жизни и фаз отравления в зависимости от времени введения (табл. 2).

Совместное дробное введение изониазида с рифампицином (длительность введения не более 6 часов) приводило к повышению токсичности комбинации препаратов «изониазид + рифампицин». По отношению к токсичности изониазида и рифампицина (при определении собственной токсичности каждого препарата, таблица 1) процент повышения токсичности был идентичен и составил при сочетанном введении препаратов в 10 ч 00 мин утра – 37 % (крысы-М), 43 % (кры-

Таблица 2

**Средняя продолжительность фаз отравления, средняя продолжительность жизни крыс-самцов в условиях дробного введения среднесмертельной дозы изониазида и рифампицина**

Показатели	Время начала дробного введения препаратов в DL <sub>50</sub>			
	Доза изониазида 240 мг/кг (1/5 от DL <sub>50</sub> ) на 1 введение, с интервалом 1ч		Доза рифампицина 3800 мг/кг (1/5 от DL <sub>50</sub> ) на 1 введение, с интервалом 1ч	
	10 ч 00 мин	22 ч 00 мин	10 ч 00 мин	22 ч 00 мин
Продолжительность фазы торможения, 00:00 – часы, минуты (M ± m)	03:00 ± 6,8	04:26 ± 8,5	05:06 ± 9,0	05:22 ± 10,2
	t утро-вечер = 8,0		t утро-вечер = 1,2	
Продолжительность фазы двигательного возбуждения, 00:00 – часы, минуты (M ± m)	00:55 ± 6,3	01:59 ± 6,7	07:05 ± 51,3	06:57 ± 51,0
	t утро-вечер = 7,0		t утро-вечер = 0,1	
Суммарная доза препаратов, приводящая к летальности 50% подопытных крыс	960 мг/кг	1200 мг/кг	19000 мг/кг	19000 мг/кг
Средняя продолжительность жизни*, 00:00 – часы, минуты (M ± m)	03:55 ± 11,6	06:25 ± 14,2	12:11 ± 55,6	12:09 ± 56,9
	t утро-вечер = 8,2		t утро-вечер = 0,03	

Примечание: \* – средняя продолжительность жизни погибших животных за время наблюдения.

сы-Ф), при введении препаратов в 22 ч 00 мин вечера – 10 % (крысы-М), 23 % (крысы-Ф). Анализ полученных экспериментальных данных по изучению влияния суточных ритмов на токсичность комбинированно вводимых препаратов позволил установить, что применение препаратов в 22 ч 00 мин вечера приводило к снижению их токсичности (табл. 3).

Одноразовое введение среднесмертельной дозы изониазида (1200 мг/кг) в комбинации с рифампицином в дозе 3800 мг/кг (1/5 от DL<sub>50</sub>) приводило к снижению токсичности изониазида, что проявлялось полным отсутствием летальности крыс (табл. 4). Установленный феномен позволил четко определить антагонистическое действие рифампицина на токсичность изониазида.

При данном варианте совместного введения препаратов наблюдалось снижение эффектов нейротоксичности изониазида, что проявлялось отсутствием судорог (фазы двигательного возбуждения). Известно, что проявление фазы двигательного возбуждения, эпистатуса является истинным признаком острого отравления изониазидом при его введении в диапазонах летальных доз [23-24]. Для отравления при совместном введении 1200 мг/кг изониазида и 3800 мг/кг ри-

фампицина (дозы в соотношении 1:3) было характерно только наличие фазы двигательного торможения, продолжительностью до 6-12 часов, далее у животных происходило восстановление нормальных локомоций и концу 1 суток признаки интоксикации постепенно исчезали, животные подходили к поилкам, активно проявляли интерес к корму. Процент повышения установленной среднесмертельной дозы изониазида при его одноразовом совместном введении с рифампицином (3800 мг/кг, что составляло 1/5 от DL<sub>50</sub>) по отношению к полуметальной дозе изониазида установленной при одноразовом её введении интактным крысам составил 43 % при введении 10 часов утра и 48 % при введении в 22 часа вечера. Определение фазы двигательного возбуждения, эпистатуса переходящего в 50% случаев в состояние «изониазидной» комы (продолжительностью 40-60 минут) было характерно только при введении летальных доз изониазида в условиях его одноразового совместного введения с рифампицином. За 10-15 минут до наступления «без судорожной» биологической смерти животные выходили из состояния комы, что определялось возобновлением слабого ориентировочного рефлекса, который проявлялся небольшим подъ-

Таблица 3

**Данные токсикометрии совместного введения изониазида с рифампицином в зависимости от времени введения (n = 12 в каждой подопытной группе)**

Время введения (00:00 – часы минуты)	Препараты вводимые совместно	DL <sub>50</sub> , мг/кг	
		Крысы М	Крысы F
10 ч 00 мин	Расчет по введенному изониазиду совместно с рифампицином (а)	608 ± 59	521 ± 56
	Расчет по введенному рифампицину совместно с изониазидом (б)	12033 ± 1165	8642 ± 935
22 ч 00 мин	Расчет по введенному изониазиду совместно с рифампицином (в)	1152 ± 78	878 ± 70
	Расчет по введенному рифампицину совместно с изониазидом (г)	17100 ± 1165	12397 ± 992
Коэффициент достоверности (t) между экспериментальными группами		t а-в = 5,6 t б-г = 3,1	t а-в = 4,0 t б-г = 2,8

Таблица 4

**Установление среднесмертельной дозы изониазида при его совместном введении с рифампицином крысам-самцам (n = 10 в каждой подопытной группе)**

Схема совместного введения: DL <sub>50</sub> изониазида* + 1/5 от DL <sub>50</sub> рифампицина – одноразово				Установленная DL <sub>50</sub> по изониазиду, при его совместном введении с рифампицином в дозе 1/5 от DL <sub>50</sub>
Дозы препаратов	Летальность	Дозы препаратов	Летальность	
1200 мг/кг (DL <sub>50</sub> *) Изониазид + 3800 мг/кг (1/5 от DL <sub>50</sub> ) Рифампицин	0/10	2400 мг/кг (2 • DL <sub>50</sub> *) Изониазид + 3800 мг/кг (1/5 от DL <sub>50</sub> ) Рифампицин	10/10	1767 ± 53 мг/кг (введение в 10 ч утра)
				2033 ± 53 мг/кг (введение в 22 ч вечера)
Средняя продолжительность жизни погибших животных за время наблюдения (00:00 – часы, минуты) 03:19 ± 10 (введение в 22 ч вечера)				01:53 ± 15 (введение в 10 ч утра)
Коэффициент достоверности (t)				t утро-вечер (по DL <sub>50</sub> ) = 3,6 t утро-вечер (по СПЖ) = 4,8

Примечание: \* – DL<sub>50</sub> изониазида, установленная при его одноразовом введении интактным крысам.

ёмом головы животного в сторону звукового раздражителя. В остальных случаях смерть наступала в состоянии судорог. Совместное одноразовое введение изониазида в среднесмертельной дозе (табл. 4) с рифампицином в дозе 3800 мг/кг позволило установить и влияние суточных ритмов на токсичность и среднюю продолжительность крыс в сторону понижения токсичности изониазида и повышения продолжительности жизни крыс при его введении в 22 часа вечера.

Полученные статистически достоверные данные влияния хронобиологических ритмов на

среднюю продолжительность жизни крыс после введения препарата «Изониазид», «Рифампицин» и комбинации изониазида и рифампицина в условиях совместного введения в утренние и вечерние часы суток представлены в таблице 5.

Анализ данных таблицы 5, позволил установить, что одноразовое и дробное введение изониазида, а также его совместное дробное введение с рифампицином, приводило к статистически достоверному повышению средней продолжительности жизни при введении препаратов в 22 часа вечера. Дробное введение рифампицина не приво-

Таблица 5

**Средняя продолжительность жизни крыс после однократного введения  
препарата «Изониазид» в дозах DL<sub>50</sub>**

Препараты, дробность введения доз препаратов per os	Время введения препаратов (00:00 – часы минуты)	Средняя продолжительность жизни крыс 00:00 – часы, минуты (M±m)	
		Крысы М	Крысы F
Изониазид (одноразовое введение)	10:00 (утро) (1)	00:35 ± 5	00:37 ± 3
	22:00 (вечер) (1)	01:00 ± 4	00:54 ± 6
Изониазид (дробное введение)	10:00 (утро) (2)	03:55 ± 11,6	04:20 ± 16,1
	22:00 (вечер) (2)	06:25 ± 14,2	07:55 ± 20,6
Рифампицин (дробное введение)	10:00 (утро) (3)	12:11 ± 55,6	09:20 ± 42,9
	22:00 (вечер) (3)	12:09 ± 56,9	09:52 ± 51,2
Изониазид + Рифампицин (совместное дробное введение)	10:00 (утро) (4)	03:30 ± 10,0	03:44 ± 12,2
	22:00 (вечер) (4)	05:41 ± 13,1	05:03 ± 9,5
Коэффициент достоверности (t) между экспериментальными группами: утро-вечер	t (1утро-1вечер) = 3,9 (M); t (1 утро -1 вечер) = 2,5 (F); t (2 утро -2 вечер) = 8,2 (M); t (2 утро -2 вечер) = 8,1 (F); t (3 утро -3 вечер) = 0,03 (M); t (3 утро -3 вечер) = 0,48 (F); t (4 утро -4 вечер) = 7,9 (M); t (4 утро -4 вечер) = 5,1 (F);		

дило к достоверным изменениям показателя в условиях введения препарата в разное время суток.

Результаты изучения кумуляции препаратов «Изониазид», «Рифампицин» в отдельности и в комбинации при введении в утренние и вечерние часы суток представлены в таблице 6.

При введении изониазида в течение 10 дней в дозе 1/10 от DL<sub>50</sub> (табл. 6) признаки интоксикации визуально не определялись, летальность отсутствовала [24]. Введение среднесмертельной дозы изониазида на 12-е сутки приводило к появлению признаков понижения токсичности, по-видимому, вследствие развития толерантности к токсическим дозам изониазида, которая усиливалась у животных получавших изониазид в 22 часа вечера, что определялось лишь 10% летальности подопытных крыс.

Введение рифампицина в дозе 1/10 от DL<sub>50</sub> в течение 10 дней (табл.6) приводило к наступлению летальности, что свидетельствовало о наличии признаков развития кумуляции. Введение подопытной группе крыс на 12-е сутки среднесмертельной дозы изониазида установленной на интактных крысах приводило к 50 % летальности крыс.

Совместное введение изониазида с рифампицином приводило к снижению кумуляции. Введе-

ние изониазида в среднесмертельной дозе, установленной на интактных крысах на 12-е сутки, не приводило к летальности подопытных крыс, что подтверждало установленный ранее феномен антагонизма рифампицина в отношении токсического действия изониазида, применяемого в условиях совместного введения и развития толерантности к изониазиду при его применении в относительно низких токсических дозах (табл. 6). Влияние суточных ритмов на снижение токсичности было выявлено при введении изониазида в условиях моно – и совместного введения с рифампицином. Процент повышения среднесмертельной дозы изониазида, вводимого совместно с рифампицином в 22 часа вечера на 12-е сутки, составил 14 % (коэффициент достоверности t = 2,2).

**Заключение.** Проведенные экспериментальные токсикологические исследования токсичности изониазида и рифампицина в условиях совместного перорального введения крысам позволили установить эффект снижения токсичности изониазида при совместном применении с рифампицином. Было установлено, что введение среднесмертельной дозы изониазида, установленной на интактных крысах, совместно с ри-

**Динамика летальности крыс-самцов при ежедневном пероральном применении изониазида, рифампицина, комбинации изониазида и рифампицина при их совместном введении в течение 10 дней с последующим определением DL<sub>50</sub> (n = 10 в каждой подопытной группе)**

Время введения препаратов	Вводимые препараты	Длительность введения препаратов – 10 дней			Однократное введение изониазида после 10-дневного применения препаратов		
		Дозы препаратов в сутки	Суммарные дозы препаратов, мг/кг	Летальность крыс	DL <sub>50</sub> , установленной на интактных крысах, мг/кг	Летальность крыс после введения DL <sub>50</sub> , установленной на интактных крысах	DL <sub>50</sub> на 12-е сутки от начала эксперимента, мг/кг
10 ч 00 мин утра	Изониазид	1/10 от DL <sub>50</sub>	1233	0/10	1233 ± 43	4/10	1400 ± 43
	Рифампицин	1/10 от DL <sub>50</sub>	19000	4/10	1233 ± 43	3/6	1233 ± 43
	Изониазид + Рифампицин	1/10 от DL <sub>50</sub>	1233 + 19000	4/10	1233 ± 43	0/6	1433 ± 34
22 ч 00 мин вечера	Изониазид	1/10 от DL <sub>50</sub>	1375	0/10	1375 ± 38	1/10	1521 ± 27
	Рифампицин	1/10 от DL <sub>50</sub>	19000	4/10	1375 ± 38	3/6	1375 ± 38
	Изониазид + Рифампицин	1/10 от DL <sub>50</sub>	1375 + 19000	1/10	1375 ± 38	0/9	1635 ± 84

фампицином не вызывало летальности крыс, а в клинике острого отравления не проявлялась фаза двигательного возбуждения, переходящая в эпистатус, что свидетельствовало об уменьшении нейротоксичности изониазида при совместном применении с рифампицином.

При исследовании влияния суточных ритмов на токсичность комбинации изониазида и рифампицина было установлено снижение токсичности и увеличение средней продолжительности жизни крыс при совместном введении препаратов в вечернее время суток. Введение рифампицина в утреннее и вечернее время суток не приводило к изменению токсичности и средней

продолжительности жизни, отмечена лишь большая чувствительность крыс-самок к действию летальных доз рифампицина вне зависимости от времени введения препарата.

Полученные экспериментальные токсикологические данные дают основание специалистам разрабатывать рациональный подход к режимам химиотерапии туберкулеза с использованием комбинаций изониазида с рифампицином, а также при применении современных комбинированных противотуберкулезных препаратов, содержащих фиксированные дозы изониазида и рифампицина в составе единой лекарственной формы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. Химико-фармацевтический журнал. 2003; 37(3): 32-34.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика (пер. с англ.) / Москва: Практика; 1999.
- Гриценко Н.С., Долгих В.Т. Нарушение сократимости и метаболизма миокарда при длительном приеме изониазида. Сибирский медицинский журнал. 2009; 5: 79-82.
- Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. Москва: ИД «Русский врач»; 2003.
- Гуськова Т.А., Либман С.С. Значение хронобиологии для фармакологических и токсикологических исследований. Фармакология и токсикология. 1987; 1(4): 111-118.
- Гуськова Т.А., Либман С.С. Хронобиологические аспекты лекарственной токсикологии (обзор состояния проблемы). Токсикологический вестник. 1997; 2: 2-7.
- Зоркальцева Е.Ю. Комбинированные противотуберкулезные препараты в практике врача фтизиатра. Иркутск, 2009.
- Иванова Д.А. Нежелательные побочные реакции при лечении больных туберкулезом: общие вопросы. Туберкулез и социально-значимые заболевания. 2013; 1: 57-65.
- Калько Е.А., Дрогозов С.М., Позднякова А.Ю., Захарко Н.В. Циркадианная зависимость токсичности парацетамола у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016; 79(7): 25-28.
- Клиническая фармакология: национальное руководство / под ред. Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукеса, В.К. Лепяхина, В.И. Петрова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014.
- Коваленко В.Н., Бышовец Т.Ф., Воронина А.К. Индукция цитохрома P-450 2E1 в патогенезе токсического действия лекарств. Психофармакология и биологическая наркология. 2007; 7(4): 1730-1731.
- Лесная Н.А. Хронотоксикология некоторых алкилирующих агентов. Российский биотерапевтический журнал. 2003; 1: 30-31.
- Лойт А.О., Савченков М.Ф. Профилактическая токсикология: руководство для токсикологов-экспериментаторов. Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та; 1996.
- Лоншакова К.С., Абгалдаева Е.А., Ажунова Т.А., Убашеев И.О., Разуваева Я.Г., Мондодоев А.Г. Нефрозащитное действие фитозактракта «Нефрофит» при введении комплекса противотуберкулезных препаратов в эксперименте. Сибирский медицинский журнал. 2007; 1: 82-85.
- Мордык А.В., Иванова О.Г., Нагибина Л.А., Ситникова С.В. Препараты янтарной кислоты в комплексном лечении больных туберкулезом. Туберкулез и болезни легких. 2014; 91(6): 61-64.
- Павлюченкова Н.А., Крикова А.В., Мякишева Т.В., Сахаритова Е.А. Сравнительный анализ назначений противотуберкулезных препаратов в стационарах медицинских организаций гражданского и пенитенциарного секторов Смоленской области. Туберкулез и болезни легких. 2015; 5: 132-133.



17. Паролина Л.Е., Морозова Т.И., Отпущеникова О.Н., Разина А.Ю., Докторов Н.П. Клиническая эффективность лечения туберкулеза легких при множественной лекарственной устойчивости возбудителя. Туберкулез и болезни легких. 2015; 5: 138-139.

18. Пентюк А.А., Мороз Л.В., Паламарчук О.В. Поражение печени ксенобиотиками. Современные проблемы токсикологии. 2001; 2: 8-16.

19. Расулов М.М., Бабаев Б.М. Изучение поведения крыс в условиях, близких к виварию. Материалы Всесоюзной конференции. 8-10 октября 1980 г. Москва, 1980; 39-40.

20. РД 64-126-91 «Правила доклинической оценки безопасности фармакологиче-

ческих средств (GLP)». Москва; 1991.

21. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. ЧАСТЬ ПЕРВАЯ. МОСКВА: ГРИФ И К; 2012.

22. ТРАХТЕНБЕРГ И.М., СОВА Р.Е., ШЕФТЕЛЬ В.О., ОНИКИЕНКО Ф.А. ПОКАЗАТЕЛИ НОРМЫ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ. МОСКВА: МЕДИЦИНА; 1978.

23. Усов К.И., Гуськова Т.А., Юшков Г.Г., Машанов А.В. Влияние хронобиологических ритмов на токсичность противотуберкулезного препарата «Изониазид» в условиях эксперимента. Токсикологический вестник. 2016; 2: 31-36.

24. Усов К.И., Гуськова Т.А., Юшков Г.Г.,

Машанов А.В. Чувствительность животных различных возрастных групп к изониазиду в условиях токсикологического эксперимента. Токсикологический вестник. 2016; 5: 36-43.

25. Усов К.И., Юшков Г.Г., Машанов А.В. Острая токсичность противотуберкулезных препаратов, содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид (экспериментальное исследование). Туберкулез и болезни легких. 2014; 12: 76-82.

26. Усов К.И., Юшков Г.Г., Машанов А.В., Шульгина Н.А., Дударева К.А. Ксантуреновая кислота как биомаркер обмена триптофана в условиях экспериментального воздействия современными противотуберкулезными препаратами. Туберкулез и болезни легких. 2015; 5: 184-185.

27. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания. М., Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014; 56 с.

28. Фещенко Ю.И., Черненко С.А., Мальцев В.И., Викторов А.П., Матвеева Е.В., Логвина И.А. и др. Оценка значимости побочных реакций противотуберкулезных препаратов при лечении туберкулеза. Украинский медицинский часопис. 2008; 3(65): 117-125.

29. Филиппова Г.Ф. Особенности временной организации суточных вариаций температуры тела лабораторных животных в эксперименте при применении производных ГОМК (оксидиригид натрия). Вестник Уральской медицинской академической науки. 2013; 2: 58-60.

## REFERENCES:

1. Berezovskaya I.V. Classification of chemical substances by parameters of acute toxicity at parenteral modes of introduction. Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal. 2003; 37(3): 32-34 (in Russian).

2. Glants S. Primer of Biostatistics. Moscow: Praktika, 1999 (in Russian).

3. Gritsenko N.S., Dolgikh V.T. Infringement of contractility and a metabolism of a myocardium in long reception of izoniazid. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 2009; 5: 79-82 (in Russian).

4. Guskova T.A. Toxicology of drugs. Moscow: ID «Russkiy vrach»; 2003 (in Russian).

5. Guskova T.A., Liberman S.S. The importance of chronobiology for pharmacological and toxicological studies. Farmakologiya i toksikologiya. 1987; 1(4): 111-118 (in Russian).

6. Guskova T.A., Liberman S.S. Chronobiological aspects of drug toxicology (critical evaluation of the problem). Toksikologicheskiy vestnik. 1997; 2: 2-7 (in Russian).

7. Zorkalceva E.Ju. Combined antituberculous drugs in the practice of phthisiatrician. Irkutsk, 2009 (in Russian).

8. Ivanova D.A. Adverse drug reactions during treatment of tuberculosis: the main questions. Tuberkulez i sotsialno-znachimye zabolovaniya. 2013; 1: 57-65 (in Russian).

9. Kalko E.A., Drogovoz S.M., Pozdnyakova A.Ju., Zakharko N.V. Circadian dependence of paracetamol hepatotoxicity in rats. Eksperimentalnaya i klinicheskaya

farmakologiya. 2016; 79(7): 25-28 (in Russian).

10. Clinical pharmacology: national leadership. Moscow: GEOTAR-Media, 2014 (accessed 23 January 2017) (in Russian).

11. Kovalenko V.N., Byshovets T.F., Voronina A.K. Induction of cytochrome P-450 2E1 in the pathogenesis of toxic effects of drugs. Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya. 2007; 7(4): 1730-1731 (in Russian).

12. Lesnaya N.A. Chronotoxicology of some alkylating agents. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal. 2003; 1: 30-31 (IN RUSSIAN).

13. Loyt A.O., Savchenkov M.F. Preventive toxicology. Irkutsk; 1996 (in Russian).

14. Lonshakova K.S., Abgaldava E.A., Azhurova T.A., Ubashev I.O., Razuvaeva Ya.G., Mondodoev A.G. Nephroprotective effect of phytoextract «Nephrophyt» of a complex of antituberculous preparations in experiment. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 2007; 1: 82-85 (in Russian).

15. Mordyk A.V., Ivanova O.G., Nagibina L.A., Sitnikova S.V. Succinic acid preparations in the combination treatment of patients with tuberculosis. Tuberkulez i bolezni legkikh. 2014; 91(6): 61-64 (in Russian).

16. Pavljuchenkova N.A., Krikova A.V., Myakisheva T.V., Sakharitova E.A. Comparative analysis of tuberculosis drugs prescription in in-patient departments of civilian and penitentiary sectors of Smolensk region. Tuberkulez i bolezni

legkikh. 2015; 5: 132-133 (in Russian).

17. Parolina L.E., Morozova T.I., Otputshchennikova O.N., Razina A.Ju., Doktorova N.P. Clinical efficiency of pulmonary tuberculosis treatment with multiple resistance of mycobacteria. Tuberkulez i bolezni legkikh. 2015; 5: 138-139 (in Russian).

18. Pentjuk A.A., Moroz L.V., Palamarчук O.V. Liver damage by xenobiotics. Sovremennye problemy toksikologii. 2001; 2: 8-16 (in Russian).

19. Rasulov M.M., Babaev B.M. The study of the behavior of rats in conditions close to the vivarium. In: Materials of all-Union conference. Moscow, 1980; 39-40 (in Russian).

20. RD 64-126-91. Terms of preclinical safety evaluation of pharmacological substances (GLP) Moscow; 1991 (in Russian).

21. Guidelines for pre-clinical trials of medicinal products. Part one. Moscow; 2012 (in Russian).

22. Trakhtenberg I.M., Sova R.E., Sheftel V.O., Onikienko F.A. Performance standards in laboratory animals in toxicological experiment. Moscow; 1978 (in Russian).

23. Usov K.I., Guskova T.A., Jushkov G.G., Mashanov A.V. The influence of chronobiological rhythms on the toxicity of anti-tuberculosis drug «Isoniazid» in the experiment. Toksikologicheskiy vestnik. 2016; 2: 31-36 (in Russian).

24. Usov K.I., Guskova T.A., Jushkov G.G., Mashanov A.V. The Sensitivity of Animals

of Different Age Groups to Isoniazid in Conditions Toxicological Experiment. Toksikologicheskiy vestnik. 2016; 5: 36-43 (in Russian).

25. Usov K.I., Jushkov G.G., Mashanov A.V. Acute toxicity of pyridoxine hydrochloride containing and noncontaining antituberculosis drugs (an experimental study). Tuberkulez i bolezni legkikh. 2014; 12: 76-82 (in Russian).

26. Usov K.I., Jushkov G.G., Mashanov A.V., Shulgina N.A., Dudareva K.A. Xanthurenic acid as a biomarker of tryptophan exchange under experimental effect by modern anti-tuberculosis drugs. Tuberkulez i bolezni legkikh. 2015; 5: 184-185 (in Russian).

27. Federal clinical recommendations on diagnostics and treatment of tuberculosis of respiratory organs. Moscow, Tver: Triada, 2014 (in Russian).

28. Feshchenko Ju.I., Cherenko S.A., Maltsev V.I., Viktorov A.P., Matveeva E.V., Logvina I.A. et al. Significance evaluation of the antituberculosis drugs side effects in tuberculosis treatment. Ukrainskiy medichniy chasopis. 2008; 3(65): 117-125 (in Russian).

29. Filippova G.F. Features of time regulations of laboratory animal bodies temperature change in experiment with gammaoxybutanoic acid derivatives (sodium oxybutyrate). Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki. 2013; 2: 58-60 (in Russian).

K.I. Usov<sup>1,2</sup>, T.A. Guskova<sup>3</sup>, G.G. Yushkov<sup>1</sup>, A.V. Mashanov<sup>1</sup>, A.A. Gushchina<sup>1</sup>

## THE INFLUENCE OF CHRONOBIOLOGICAL RHYTHMS ON TOXICITY OF ISONIAZID AND RIFAMPICIN COMBINATION UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS IN RATS

<sup>1</sup>Research Institute of Biophysics, Test Laboratory Center, Angarsk State Technical University, 665835, Angarsk, Russian Federation.

<sup>2</sup>Irkutsk State Medical University, RF Ministry of Health, 664003, Irkutsk, Russian Federation

<sup>3</sup>Non-commercial partnership of Healthcare assistance «Scientific Center of Quality Control», 115191, Moscow, Russian Federation,

Results of an experimental toxicological study on anti-tubercular drugs Isoniazid and Rifampicin at their combined administration are reported. It made it possible to establish antagonistic effect of rifampicin to lethal doses of isoniazid and to elicit a decrease in toxicity of the isoniazid and rifampicin combination when administrated at the evening time..

**Keywords:** anti-tubercular drug, Isoniazid; Rifampicin; chronobiology; chronobiological rhythms; sound chemotherapy; experimental research.

Материал поступил в редакцию 17.05.2017 г.

УДК 612.86 :615.07

# СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОБОСНОВАНИЮ ДОПУСТИМОГО СОДЕРЖАНИЯ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ ВЕЩЕСТВ, ОБЛАДАЮЩИХ ЗАПАХОМ

О.В. Бударина,  
М.А. Пинигин,  
Л.А. Федотова,  
З.Ф. Сабирова,  
Т.Д. Потапченко

ФБГУ «Центр стратегического  
планирования и управления  
медико-биологическими рисками  
здоровью» Министерства  
здравоохранения Российской  
Федерации, 119121, г. Москва,  
Российская Федерация

**В** работе приводится обзор основных методических подходов по экспериментальному нормированию пахучих веществ (смесей веществ) в атмосферном воздухе с учетом недопустимости «навязчивого» запаха как лимитирующего критерия обоснования ПДКм.р.. Показано, что разработанная методика установления допустимого содержания указанных веществ основана на определении зависимости вероятности ощущения запаха разной силы от концентрации (ольфакто-одориметрии), с использованием бальной оценки силы запаха и современного ольфактометрического оборудования. Обоснованные нормативные значения гармонизированы с зарубежными критериями качества воздуха - уровнями, установленными для запахов с различной качественной характеристикой по результатам эпидемиологических исследований, и их соблюдение обеспечит защиту населения от «навязчивого» запаха.

**Ключевые слова:** вещества, обладающие запахом; сила (интенсивность) запаха; «неопределенный» запах; «навязчивый» запах; ольфакто-одориметрические исследования; динамический ольфактометр.

**Введение.** Как известно, в выбросах промышленных, сельскохозяйственных и коммунальных производств, транспорта могут присутствовать весьма разнообразные вещества, в том числе обладающие запахом, что нередко вызывает жалобы населения, проживающего в районе размещения предприятий. Поэтому наличие запаха в воздухе всегда являлось лимитирующим признаком вредности вещества при обосновании его максимальной разовой (20-30 минутной) ПДК в атмосферном воздухе. Гигиенические нормативы (ПДК) в атмосферном воздухе веществ, обладающих запахом, первоначально устанавливались на основе порога ощущения запаха наиболее

чувствительных лиц, затем по вероятностному 16%-ному порогу «неопределенного» запаха (ольфактометрический подход) с учетом коэффициентов запаса, определяемых опасностью веществ по углу наклона графика зависимости вероятности ощущения запаха от концентрации [1-5]. К настоящему времени установлено ПДК 224 веществ по их рефлекторному действию (исключительно запаху) и 161 вещества – по рефлекторно-резорбтивному [6].

Вместе с тем, практика показывает, что даже при соблюдении нормативов абсолютно исключить появление запаха в воздухе невозможно, несмотря на то, что ныне установленные макси-

**Бударина Ольга Викторовна (Budarina Olga Viktorovna)**, к.м.н., руководитель лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФБГУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, г. Москва, vozduch2002@mail.ru

**Пинигин Мигмар Александрович (Pinigin Migmar Aleksandrovich)**, проф., д.м.н., вед.н.с. лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФБГУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, г. Москва, piniginma2010@yandex.ru

**Федотова Лионелла Айдыновна (Fedotova Lionella Aidinovna)**, к.м.н., с.н.с. лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФБГУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, г. Москва, fedotov2003@mail.ru

**Сабирова Зульфия Фаридовна (Sabirova Zulfia Faridovna)**, проф., д.м.н., вед.н.с. лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФБГУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, г. Москва, vozduch2002@mail.ru

**Потапченко Тимур Дмитриевич (Potapchenko Timur Dmitrievich)**, м.н.с. лаборатории гигиены атмосферного воздуха ФБГУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, г. Москва, timurmadi@gmail.com

мальные разовые ПДК по рефлекторному показателю обуславливают ощущение неопределенного, неспецифического запаха с риском не более 10-4-10-7 [7], что, безусловно, является весьма жестким и часто недостижимым на сегодняшний день требованием. Отечественная практика экспериментального нормирования отдельных веществ по «неопределенному» запаху и дальнейшего контроля их содержания в атмосферном воздухе исключительно химическими методами не отвечает современным подходам к оценке запаха, которые были впервые предложены еще В.А.Рязановым (1954) и заключаются в том, что запах в атмосферном воздухе может присутствовать, однако, он не должен быть «навязчивым». Это обуславливает необходимость пересмотра «неопределенного» запаха как лимитирующего критерия ПДК, особенно в связи с тем, что специфические запахи производств формируются за счет значительного разнообразия веществ, химический контроль которых чрезвычайно затруднителен.

Поэтому при проведении органолептических исследований атмосферного воздуха наряду с определением вероятности обнаружения порогового запаха (ольфактометрия), впервые по предложению М.А.Пиннигина [8], стала осуществляться и одориметрическая оценка его силы с использованием 6-ти балльной системы, что позволило значительно расширить подходы к оценке запаха в атмосферном воздухе и подойти к разработке одориметрических критериев его «навязчивости» [9-12].

Разработка критериев оценки запаха с учетом его «навязчивости» (или вызываемого «раздражения») согласуется с методологией управления запахом в атмосферном воздухе, принятой в последние десятилетия за рубежом [13-16]. Несмотря на разнообразие подходов к регулированию запахов, во многих странах допускается наличие запаха в воздухе при условии, что он «не будет вызывать существенного раздражения». Так, со-

гласно [15], в качестве допустимого значения может быть принят «раздражающий» запах, ощущаемый незначительной частью населения (не более 5%) в течение небольшого отрезка времени. При этом зарубежная практика оценки «раздражения» опирается на результаты эпидемиологических исследований (опросы населения, в т.ч. с использованием различных шкал оценки запаха [17]), которые, по мнению европейских исследователей [16], трудоемки и дороги вследствие необходимости привлечения к работе населения.

В связи с этим, а также учитывая многолетний отечественный опыт нормирования пахучих веществ, разработан экспериментальный метод определения уровней, не вызывающих «раздражения», которые будут положены в основу установления гигиенических нормативов веществ с учетом критерия «навязчивости» их запаха.

В основе методологии гигиенического нормирования допустимого содержания веществ в атмосферном воздухе с учетом «навязчивости» запаха лежит вероятностный подход [5], но при этом изучение зависимости «концентрация – вероятность ощущения запаха» (ольфактометрия), что ранее использовалось при установлении ПДКм.р., дополняется одориметрической оценкой запаха.

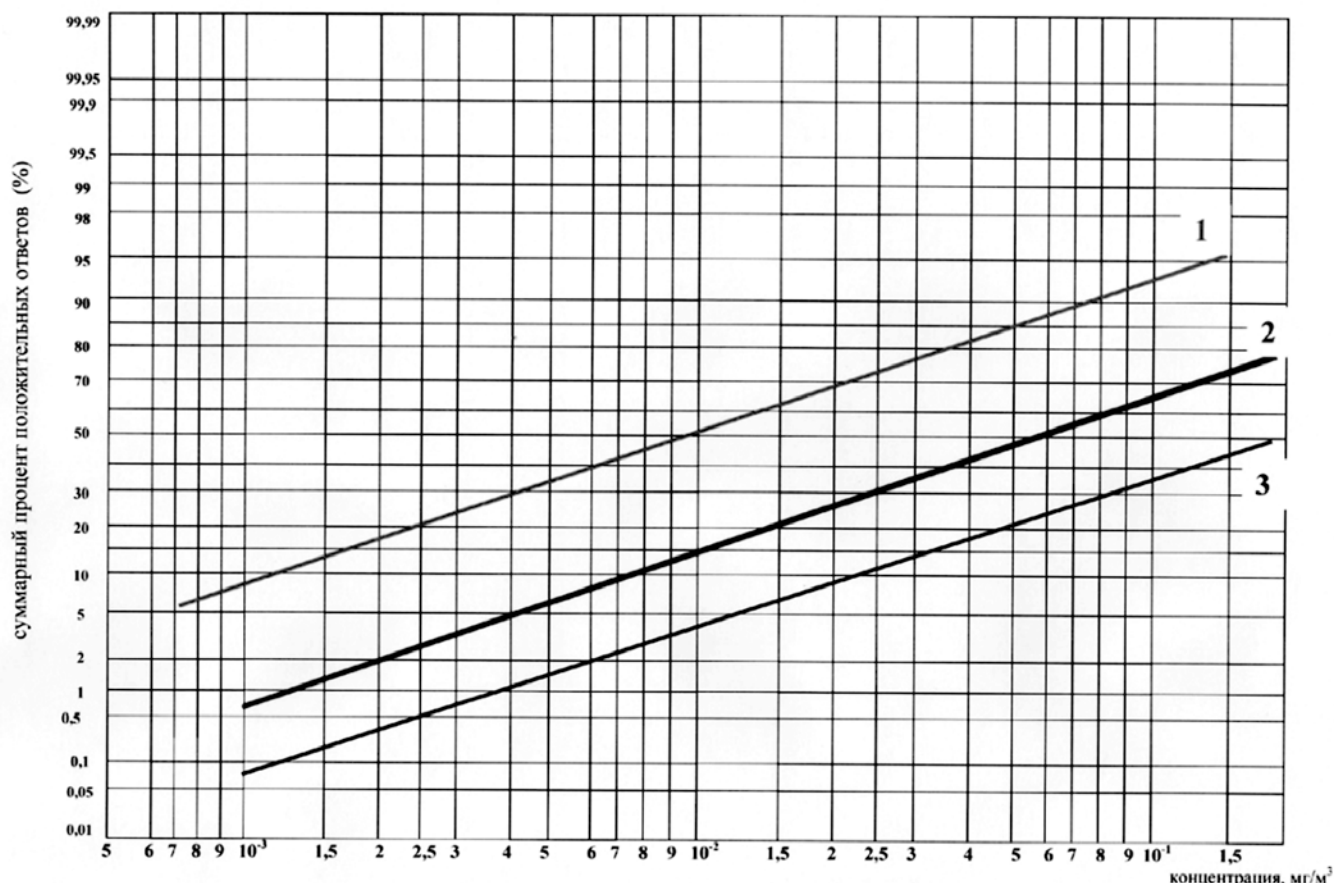
Для перехода от вероятности обнаружения «неопределенного» запаха к вероятности обнаружения запаха различной силы в ходе экспериментальных исследований каждая концентрация оценивается не просто по наличию ощущения запаха (принцип «да»/«нет»), а по воспринимаемой интенсивности по 6-ти балльной системе (согласно табл. 1).

Результаты ольфакто-одориметрических исследований стандартного вещества (н-бутанола), а также ряда других веществ и смесей, в частности, одоранта СПМ (смесь природных меркаптанов), летучих компонентов выбросов различных производств, показали, что с увеличением их концентрации в воздухе возрастает как вероятность

Таблица 1

## Критерии оценки интенсивности (силы) запаха

Критерии оценки интенсивности (силы) запаха	Интенсивность (сила) запаха, баллы
Запах не обнаруживается	0
Обнаруживается как едва заметный, неопределенный	1
Обнаруживается как слабый, но специфический, распознаваемый	2
Обнаруживается как отчетливый, умеренный <sup>1</sup>	3
Обнаруживается как сильный	4
Обнаруживается как очень сильный, подавляющий	5



**Рис. 1.** Зависимость вероятности ощущения запаха СПМ разной силы от концентраций в воздухе: линия 1 – неопределенный запах, линия 2 – запах силой 2 балла и линия 3 – запах силой 3 балла.

ощущения «неопределенного запаха», так и вероятность ощущения запаха разной силы.

По результатам исследований и аналитической обработки данных строятся соответствующие зависимости в виде прямых на пробитной сетке, причем не только зависимость вероятности ощущения «неопределенного» запаха от концентрации [5], но и запаха силой 2 балла («специфического, распознаваемого») и запаха силой 3 балла («раздражающего» или «навязчивого»). Пример таких зависимостей для смеси природных меркаптанов показан на рис.1. и в табл.2.

Результаты графического анализа зависимости «концентрация – вероятность ощущения запаха разной силы» дают возможность определить пороговые значения, которые, согласно [15], являются критериями для оценки сенсорных эффектов, а именно: порог обнаружения запаха (минимальная концентрация вещества, которую можно обнаружить в 50% его присутствия); порог распознавания (наименьшая концентрация вещества, при которой запах может быть точно распознан в 50% случаев), а также порог неприятного ощущения или «навязчивости» (концентрация вещества, при которой только очень небольшая часть населения (менее 5%) испытывает неприятные ощущения), и

которые могут быть использованы в качестве основы для разработки рекомендуемых безопасных величин.

Поскольку критическим в отношении возникновения значительного «раздражения» у населения является уровень запаха, при котором более 5% населения испытывает неприятные ощущения [15], в качестве лимитирующего критерия в атмосферном воздухе населенных мест может быть рекомендован запах силой 3 балла с вероятностью ощущения 5%, соответствующий уровень которого определяется по указанному графику зависимости. Появление запаха такой силы допустимо не более 2% времени.

При разработке метода экспериментального обоснования нормативов веществ, обладающих запахом, с учетом критерия недопустимости «навязчивости» (по В.А. Рязанову) или «раздражения» (по зарубежной практике) была принята во внимание возможность измерения силы запаха не только в единицах массы (мг/м³), но и в его европейских единицах<sup>1</sup>, что позволило сравнить устанавливаемые нормативные значения для сложных смесей веществ с показателями запаха,

<sup>1</sup> Европейская единица запаха (ЕЕЗ или ЕЕЗ/м³) - масса вещества в 1 м³ нейтрального газа (чистого воздуха), запах которой определяется в лабораторных условиях 50% испытуемых.

Таблица 2

**Зависимость вероятности ощущения запаха разной силы от концентрации одоранта СПМ  
(по этилмеркаптану)**

Концентрация этилмеркаптана, входящего в состав СПМ		Вероятность ощущения запаха разной силы		
мг/м <sup>3</sup>	ЕЕЗ/м <sup>3</sup>	«неопределенный»	запах силой 2 балла (специфический)	запах силой 3 балла («навязчивый»)
0,009	1	50%	13%	3%
0,014	1,5	62%	20%	6%
0,018	2	68%	25%	8%
0,027	3	76%	32%	10%
0,036	4	82%	40%	13%
0,045	5	85%	45%	15%
0,054	6	87%	49%	18%
0,063	7	90%	52%	20%

Таблица 3

**Количественные критерии запаха, лежащие в основе установления его приемлемых уровней, полученные по результатам эпидемиологических и экспериментальных исследований**

Виды деятельности, являющиеся источниками выбросов пахучих веществ	Критерий «приемлемости» экспозиции запаха (критерии экспозиции) 2 [19]	Предельные значения в Нидерландах [18, 20]	Критерии, полученные в эксперименте
Деятельность с отходами, подверженными гниению; очистка сточных вод	1,5 ЕЕЗ/м <sup>3</sup>	0,5-3,5 ЕЕЗ/м <sup>3</sup> (в зависимости от типа использования земель и плотности населения)	1,3 ЕЕЗ/м <sup>3</sup> (смесь меркаптанов и других серосодержащих веществ)
Активное животноводство	3,0 ЕЕЗ/м <sup>3</sup>		2,3 ЕЕЗ/м <sup>3</sup>
Обжаривание кофейных зерен	6,0 ЕЕЗ/м <sup>3</sup>	3,5 ЕЕЗ/м <sup>3</sup>	3,4-7,3 ЕЕЗ/м <sup>3</sup> (в зависимости от сорта кофе)
Производство ароматизаторов и вкусовых добавок	6,0 ЕЕЗ/м <sup>3</sup>	3,5 ЕЕЗ/м <sup>3</sup>	3,6-9,3 ЕЕЗ/м <sup>3</sup> (в зависимости от ароматизаторов)

которые используются в качестве критериев его регулирования за рубежом (табл. 3).

Таким образом, разработанная методика ольфакто-одориметрической оценки пахучих веществ в лабораторных условиях позволяет

устанавливать приемлемые уровни запаха, не оказывающие «навязчивого» («раздражающего») действия на население, и гармонизированные с зарубежными критериями качества на запах, установленными по результатам эпидеми-

ологических исследований. Так, для летучих органических соединений, образующихся в процессе высокотемпературной обработки древесины производства ДСП, установлен ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) с учётом 5% вероятности ощущения запаха силой 3 балла на уровне 0,03 мг/м<sup>3</sup>, что соответствует 5 ЕЕЗ, по пяти приоритетным веществам (альфа-пинен, бета-пинен, карен, камфен и лимонен).

Ольфакто-одориметрические исследования по установлению нормативов веществ, обладающих запахом, проводятся на динамических ольфактометрах, с отбором испытуемых согласно [21]. Использование современного ольфактометрического оборудования (в наших исследованиях - ольфактометр ЕСОМА Т08) позволяет более точно создавать заданные концентрации веществ, а также свести к минимуму время проведения исследований и физико-химический контроль содержания веществ.

В настоящее время понятие «навязчивого» запаха как лимитирующего критерия уже во-

шло в практику отечественного гигиенического нормирования веществ, загрязняющих атмосферный воздух, и на сегодняшний день имеются примеры обоснования ПДК и ОБУВ веществ, обладающих запахом, с учетом именно этого критерия, а именно: гармонизация величины максимальной разовой ПДК метилмеркаптана в атмосферном воздухе с зарубежными стандартами (ГН 2.1.6.2326-08, дополнение 4 к ГН 2.1.6.1338-03); максимальная разовая ПДК летучих компонентов выбросов производства пищевых ароматизаторов (Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 27 ноября 2014 г. №76 «О внесении изменений в ГН 2.1.6.1338-03»); ОБУВ летучих органических соединений, образующихся в процессе высокотемпературной обработки древесины производства ДСП (Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 10 декабря 2014 г. «О внесении изменений №11 в ГН 2.1.6.2309-07»).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рязанов В.А. Санитарная охрана атмосферного воздуха. М.: 1954.
2. Тепкина Л.А. К методике вероятностной оценки порога обонятельного ощущения. В кн.: Гигиенические аспекты охраны окружающей среды. М., ИОКГ им.А.Н.Сысина. - 1974, 2, - с.45-47.
3. Андреевцева Н.Г., Пинигин М.А. Обоснование максимально разовых ПДК атмосферных загрязнителей по их вероятностным порогам запаха, классам опасности и коэффициентам запаса. В сб.: Гигиенические аспекты охраны окружающей среды. М., ИОКГ им.А.Н.Сысина. - 1977, 5, - с.41-40.
4. Пинигин М.А. Гигиенические основы оценки степени загрязнения атмосферного воздуха. // Гигиена и санитария. - 1993, № 7, - с.4-8.
5. Временные методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест, №4681-88, МЗ СССР, М.: 1989.
6. ГН 2.1.6.1338-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест». - МЗ РФ. - М., 2003.
7. Pinigin M.A., Tepikina L.A., Budarina O.V. The problem of Odour in the Air and How to Solve it in Russia. // Environmental Odour Management/ International Conference, Cologne, 17 to 19 November 2004. -P. 563-567.
8. Пинигин М.А., Тепкина Л.А., Сафиулин А.А., Бударина О.В., Шипулина З.В., Игнатова Е.Н. Методические рекомендации по органолептическому контролю загрязнения атмосферного воздуха веществами, обладающими запахом. // В сб. материалов международной научно-практической конференции «Охрана атмосферного воздуха: системы мониторинга и защиты». - Пенза, 1999, - с.10-11.
9. Бударина О.В. Гигиеническая оценка загрязнения атмосферного воздуха сложными смесями веществ, обладающих запахом. Автореферат дисс. канд. мед.наук. - М., 2002, - 23 с.
10. Пинигин М.А. Гигиеническое нормирование и контроль атмосферных загрязнений в России с учетом запаха, а также пути гармонизации в этой области // Международная конференция «Актуальные вопросы оценки и регулирования запаха». Сборник докладов. ЗАО «Лиггетт-Дукат». - Москва, 4 октября 2006г. - с.30-40.
11. Пинигин М.А., Бударина О.В. и др. К развитию положений В.А.Рязанова о навязчивости запаха при оценке качества атмосферного воздуха // В сб.: Теоретические основы и практические решения проблем санитарной охраны атмосферного воздуха, М., 2003, с.228-230.
12. Баева И.В. Гигиеническая оценка табачного предприятия г.Ярославля как источника загрязнения атмосферного воздуха // Автореферат дисс. канд.мед.наук. - М., 2007, - 24 с.
13. Winneke G., Sucker K., Both R. Population Odour Annoyance is Influenced by the Hedonic Quality of Industrial Odours // Environmental Odour Management, International Conference, Cologne, 17 - 19 November 2004. - P. 9 - 12.
14. Sucker K., Muller F., Bischoff M., Both R., Winneke G. Assessment of frequency, intensity and hedonic tone of environmental odours in the field: A comparison of trained and untrained residents // Environmental Odour Management, International Conference, Cologne, 17 - 19 November 2004. - P. 219 - 228.
15. Рекомендации по качеству воздуха в Европе. Второе издание. -М., 2004, 302 с.
16. Ван Харрефельд Т. К вопросу об управлении запахом на территории Европейского Союза // Международная конференция «Актуальные вопросы оценки и регулирования запаха». Сборник докладов. ЗАО «Лиггетт-Дукат». - Москва, 4 октября 2006г. - с. 13-29.
17. Hangartner M. Recommendations on olfactometric measurements // Environmental Technology Letters. -1985. -Vol.6. -P.415-420.
18. Odour management in British Columbia: review and recommendations. Final report. RWDI AIR Inc., W05-1108, March 2005.
19. Horizontal Guidance for Odour. Part 1 - Regulation and Permitting. Part 2 - Assessment and Control. Draft. IPPC H4. [http://www.sinia.cl/1292/articles-55482\\_UKPEA\\_2002\\_IPPC\\_H4.pdf](http://www.sinia.cl/1292/articles-55482_UKPEA_2002_IPPC_H4.pdf)
20. Assessment of Community Response to Odorous Emissions. R&D Technical Report P4-095/TR, undertaken for the Environment Agency by OdourNet UK Ltd, 2002.
21. Air quality - Determination of odour concentration by dynamic olfactometry. European standard EN 13725. European committee for standardization; 2003.

## REFERENCES:

1. Rjazzanov V.A. Sanitarnaja ohrana atmosfjernogo vozduha. M.; 1954 (in Russian).
2. Tepikina L.A. K metodike verojatnostnoj ocenki poroga obonjatel'nogo oshhushhenija. V kn.: Gigenicheskie aspekty ohrany okruzhajushhej sredy. M., IOKG im.A.N.Sysina. - 1974, 2, - s.45-47 (in Russian).
3. Andreesheva N.G., Pinigin M.A. Obosnovanie maksimal'no razovyh PDK atmosfjernyh zagraznitel'ev po ih verojatnostnym porogam zapaha, klassam opasnosti i koefficientam zapasa. V sb.: Gigenicheskie aspekty ohrany okruzhajushhej sredy. M., IOKG im.A.N.Sysina. - 1977, 5, - s.41-40 (in Russian).
4. Pinigin M.A. Gigenicheskie osnovy ocenki stepeni zagraznenija atmosfjernogo vozduha. // Gigenia i sanitarija. - 1993, № 7, - s.4-8 (in Russian).
5. Vremennye metodicheskie ukazanija po obosnovaniju predel'no dopustimyh koncentracij (PDK) zagraznjajushhh veshhestv v atmosfjernom vozduhe naselennyh mest, №4681-88, MZ SSSR, M.; 1989 (in Russian).
6. GN 2.1.6.1338-03 «Predel'no dopustimye koncentracii (PDK) zagraznjajushhh veshhestv v atmosfjernom vozduhe naselennyh mest». - MZ RF. - M., 2003 (in Russian).
7. Pinigin M.A., Tepikina L.A., Budarina O.V. The problem of Odour in the Air and How to Solve it in Russia. // Environmental Odour Management/ International Conference, Cologne, 17 to 19 November 20-P. 563-567 (in Russian).
8. Pinigin M.A., Tepikina L.A., Safiulin A.A., Budarina O.V., Shipulina Z.V., Ignatova E.N. Metodicheskie rekomendacii po organolepticheskomu kontrolju zagraznenija atmosfjernogo vozduha veshhestvami, obladajushhimi zapahom. // V sb. materialov mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Ohrana atmosfjernogo vozduha: sistemy monitoringa i zashhity». - Penza, 1999, - s.10-11 (in Russian).
9. Budarina O.V. Gigenicheskaja ocenka zagraznenija atmosfjernogo

vozduha slozhnymi smesjami veshhestv, obladajushih zapahom. Avtoreferat diss. kand.med.nauk. - M., 2002, - 23 s. (in Russian).

**10. Pinigin M.A.** Gigienicheskoe normirovanie i kontrol' atmosferyh zagryaznenij v Rossii s uchetoм zapaha, a takzhe puti garmonizacii v jetoj oblasti // Mezhdunarodnaja konferencija «Aktual'nye voprosy ocenki i regulirovanija zapaha». Sbornik dokladov. ZAO «Liggett-Dukat». - Moskva, 4 oktjabrja 2006g. - s.30-40(in Russian) .

**11. Pinigin M.A., Budarina O.V.** i dr. K razvitiu položenij V.A.Rjazanova o navjazchivosti zapaha pri ocenke kachestva atmosferyh vozduha // V sb.: Teoreticheskie osnovy i prakticheskie reshenija problem

sanitarnoj ohrany atmosferyh vozduha, M., 2003, s.228-230.

**12. Baeva I.V.** Gigienicheskaja ocenka tabachnogo predprijatija g.Jaroslavlja kak istochnika zagryaznenija atmosferyh vozduha // Avtoreferat diss. kand.med.nauk. - M., 2007, - 24 s. (in Russian).

**13. Winneke G., Sucker K., Both R.** Population Odour Annoyance is Influenced by the Hedonic Quality of Industrial Odours // Environmental Odour Management, International Conference, Cologne, 17 - 19 November 20- P. 9 - 12 (in Russian).

**14. Sucker K., Muller F., Bischoff M., Both R., Winneke G.** Assessment of frequency, intensity and hedonic tone of environmental odours in the field: A comparison of trained and untrained

residents // Environmental Odour Management, International Conference, Cologne, 17 - 19 November 20- P. 219 - 228(in Russian).

**15. Rekomendacii po kachestvu vozduha v Evrope.** Vtoroe izdanie. -M., 2004, 302 s. (in Russian).

**16. Van Harrevel'd T.** K voprosu ob upravlenii zapahom na territorii Evropejskogo Sojuza // Mezhdunarodnaja konferencija «Aktual'nye voprosy ocenki i regulirovanija zapaha». Sbornik dokladov. ZAO «Liggett-Dukat». - Moskva, 4 oktjabrja 2006g. - s. 13-29(in Russian).

**17. Hangartner M.** Recommendations on olfactometric measurements // Environmental Technology Letters. -19- Vol.6.- P.415-420.

**18. Odour management in British Columbia: review and recommendations.** Final report. RWDI AIR Inc., W05-1108, March 2005.

**19. Horizontal Guidance for Odour.** Part 1 - Regulation and Permitting. Part 2 - Assessment and Control. Draft. IPPC Hhttp://www.sinia.cl/1292/articles-55482\_UKEPA\_2002\_IPPC\_H4.pdf

**20. Assessment of Community Response to Odorous Emissions.** R&D Technical Report P4-095/TR, undertaken for the Environment Agency by OdourNet UK Ltd, 2002.

**21. Air quality - Determination of odour concentration by dynamic olfactometry.** European standard EN 137 European committee for standardization; 2003

*O.V. Budarina, M.A. Pinigin, L.A. Fedotova, Z.F. Sabirova, T.D. Potapchenko*

## MODERN METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE PERMISSIBLE CONTENT OF ODOROUS SUBSTANCES IN THE AMBIENT AIR

Federal State Budgetary Institution «Center for Strategical Planning and Management of Medical and Biological Risks to Health» RF Ministry of Health, 119121 Moscow, Russian Federation

The paper presents an overview of the main methodological approaches in experimental standardization of odorants (or mixtures of odorants) in the ambient air according to «obsessive» odor inadmissibility as a limiting criterion for justification of Maximum allowable concentration (MAC maximum one time dose) . It is shown that the developed procedure of establishing a permissible content of those substances is based on estimating the relationship «concentration – odor sensation probability of different intensity» (olfactory-odorimetry), using a common scoring of smell intensity and modern olfactometry equipment. Justified normative values are harmonized with international criteria for air quality including epidemiological studies-based levels established for odors with various qualitative characteristics. Their implementation will ensure the protection of the population from «obsessive» odor.

**Keywords:** *odorous substances, power (intensity) of odor, «unspecified» odor «obsessive» odor, olfactory-odorimetry studies, dynamic olfactometer.*

Материал поступил в редакцию 05.05.2017 г.



УДК 547-3 : 616-08

## ПРОБЛЕМА ПРОМЕЖУТОЧНОГО СИНДРОМА ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

М.А. Тюнин, С.В. Чепур,  
А.С. Гоголевский,  
Д.В. Селиванов, Н.И. Бурцева,  
Н.С. Ильинский

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины»  
Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург,  
Российская Федерация

**В** обзоре рассмотрены современные представления об этиологии и патогенезе промежуточного синдрома при отравлениях антихолинэстеразными соединениями (фосфорорганические соединения, карбаматы). Представлена характеристика клинической картины синдрома и методов его диагностики с использованием электромиографии. Проанализированы и обобщены данные об опыте применения широко используемых базисных средств антидотной (реактиваторы холинэстеразы, М- и N-холинолитики) и патогенетической терапии отравлений. Для решения проблемы в качестве приоритетных направлений исследований определены поиск механизмов формирования недеполяризационного нервно-мышечного блока и разработка способов профилактики и лечения с использованием препаратов, воздействующих на N-холинорецепторы.

**Ключевые слова:** фосфорорганические соединения, промежуточный синдром, электромиография, диагностика, лечение.

**Введение.** Расширение возможностей терапии отравлений антихолинэстеразными соединениями (АХЭС), в частности ФОС и карбаматами, а также результаты последних исследований механизмов формирования клинических проявлений интоксикаций позволили существенным образом изменить представления об их токсическом действии. В настоящее время в клиническом течении отравлений выделяют три отчетливо детерминированных синдромокомплекса: холинэргический криз, промежуточный синдром и органофосфатиндуцированные отдаленные полинейропатии [1,2,3]. При последовательном развитии данные синдромокомплексы рассматриваются как стадии отравления, однако в ряде случаев промежуточный синдром может не проявляться, а отдаленные нейропатии могут возникать после скрытого периода при скудных проявлениях холинэргической симптоматики. Следует признать, что, несмотря на накопленные знания

о токсикодинамических механизмах, лежащих в основе холинэргического криза, патогенез промежуточного синдрома остается не изученным.

Под промежуточным синдромом (ПС) подразумевают совокупность клинических проявлений в виде слабости и параличей мышц шеи, мышц, иннервируемых черепными нервами, проксимальных мышц конечностей и дыхательных мышц, в том числе диафрагмы. Наиболее тяжелое течение ПС характеризуется параличом дыхательных мышц и прогрессированием дыхательной недостаточности [4,5]. Интерес к ПС и механизмам его формирования определяется, прежде всего, тем, что наряду с холинэргическим кризом он остается одной из основных причин смертности при острых отравлениях АХЭС. По данным различных клинических исследований ПС проявляется у пораженных АХЭС с частотой 10-68 % в зависимости от вида токсиканта [6,7].

**Тюнин Михаил Александрович (Tyunin Mikhail Aleksandrovich)**, к.м.н., начальник научно-исследовательского испытательного отдела ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, tyunin84@yandex.ru

**Чепур Сергей Викторович (Chepur Sergey Viktorovich)**, проф., д.м.н., начальник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, svch-spb@mail.ru

**Гоголевский Александр Сергеевич (Gogolevsky Aleksandr Sergeevich)**, к.м.н., начальник научно-исследовательского испытательного центра ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, gogolevsky@mail.ru

**Селиванов Дмитрий Вячеславович (Selivanov Dmitriy Vyacheslavovich)**, научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, campuscool@yandex.ru

**Бурцева Надежда Игоревна (Burtseva Nadezhda Igorevna)**, научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, nadyn\_baranova@gmail.ru

**Ильинский Никита Сергеевич (Ilnskiy Nikita Sergeevich)**, научный сотрудник ГНИИИ ВМ МО РФ, nika\_il2@mail.ru



Термин ПС был предложен в 1987 г. N. Senanayake и L. Karalliedde [3]. Ранее в отечественной и зарубежной литературе ПС рассматривался как II фаза токсической миопатии или как паралич 2 типа [8]. Под токсической миопатией подразумевали единый патологический процесс на уровне нервно-мышечного синапса, характеризующийся развитием нервно-мышечного блока. Клинически в течении токсической миопатии выделяли 2 фазы: I фаза включала проявления спастического нервно-мышечного блока (1 типа) в виде распространенных миофибрилляций, хореического гиперкинеза, мышечной ригидности в 1-2 сут интоксикации; 2 фаза соответствовала наступлению паралитического нервно-мышечного блока, проявляющегося прогрессирующей слабостью, парезом и параличом скелетной мускулатуры [8,9].

Несмотря на то, что ПС уже давно определен как нарушение нервно-мышечной передачи, вопросы его этиологии, патогенеза, факторов риска, фармакологической профилактики и терапии остаются мало изученными. Считается, что прогноз ПС может быть благоприятным только в том случае, если своевременно диагностировано развитие дыхательной недостаточности и выполнены необходимые лечебные мероприятия по поддержанию дыхательной функции, предусматривающие проведение ИВЛ и профилактику инфекционных осложнений [10,11]. Однако, своевременная диагностика ПС осложняется широким временным диапазоном, при котором происходит его манифестация, а также отсутствием четких клинических и лабораторных критериев, указывающих на тяжесть и характер течения в стадии прогрессирования [12].

Учитывая актуальность проблемы, в настоящем обзоре представлены современные данные об этиологии и патогенезе ПС, представлены результаты современных исследований по разработке методов его диагностики, проанализирован и систематизирован клинический опыт применения препаратов базисной терапии отравлений ФОС для профилактики и лечения ПС.

*Этиология и патогенез.* До сих пор в отношении этиологии и патогенеза ПС идут дискуссии о том, может ли синдром развиваться при отравлении любым АХЭС или только определенными соединениями, а также может ли риск и тяжесть ПС определяться степенью ингибирования ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и тяжестью предшествующего холинэргического криза [6,13]. Начиная с первых описаний ПС [3] со стабильной периодичностью поднимается вопрос о роли токсикокинетических и токсикодинамических свойств различных по структуре АХЭС в его развитии. Перечень ФОС, при отравлении, которыми зафиксированы клинические случаи разви-

тия ПС, включает диазенон, диметоат, фентион, метамидофос, метилпаратион, монокротофос, паратион, малатион, хлоропирифос, дихлофос, оксидеметон-метрил, монокротофос, параоксон, этилпаратион, ометоат, фенитротрион [7,14]. Для карбаматов случаи ПС описаны в частности для карбофурана [5].

В ранних работах активно исследовали влияние токсикокинетических свойств ФОС, роли циркуляции токсикантов в организме и их способности к аккумуляции в липофильных тканях. На примере отравлений метилпаратионом, фентионом и диметоатом, было показано, что длительное ингибирование холинэстеразы и рецидивирующее течение холинэргической симптоматики являются факторами риска развития ПС [15]. В подтверждение этих предположений были получены сведения о том, что наличие у пораженных нарушений функций почек способствует развитию ПС, тогда как интубация, интенсивная терапия и гемодиализ остаются необходимыми условиями для сохранения жизни [16]. Однако, по мере накопления новых экспериментальных и клинических данных оказалось, что ПС может развиваться при отравлении различными по структуре и токсикокинетическим свойствам АХЭС [17]. В результате целенаправленных клинических исследований были выявлены существенные различия по частоте формирования ПС при отравлении различными по структуре фосфорорганическими инсектицидами. Так, частота ПС при отравлении диметилловыми производными составила 58 %, а при отравлении диэтилловыми - 26 % [14].

При отравлении карбаматами частота развития ПС достигает 25 %. Более низкая частота возникновения ПС при отравлении карбаматами объясняется их более высоким метаболизмом, меньшим повреждением мышечной ткани, а также обратимым характером ингибирования АХЭ [5].

Установлено, что частота развития ПС зависит от тяжести отравления [18]. Согласно данным клинических исследований ПС чаще наблюдается при острых отравлениях АХЭС тяжелой степени [19,20]. В частности, частота ПС при отравлениях легкой и средней степени достигает 13-22 %, в то время как при тяжелых отравлениях данный показатель составляет 60-75 % [21].

Считается, что в основе ПС лежит блокада постсинаптической нейротрансмиссии в нервно-мышечных синапсах, опосредованная изменениями свойств N-холинорецепторов [22, 23]. К вероятным причинам таких нарушений относят десенситизацию постсинаптических N-холинорецепторов, снижение высвобождения ацетилхолина в синаптическую щель, а также вызванную оксидативным стрессом миопатию с некротическими изменениями мышечной ткани и нарушении-

ем постсинаптических процессов [24,25,26]. Предполагается, что постсинаптические нарушения нервно-мышечной передачи могут быть вызваны конформационными изменениями N-холинорецепторов в результате перехода деполаризационного нервно-мышечного блока в недеполяризационный, характеризующийся угнетением ответа при тетанической стимуляции [22].

Гистоморфологические исследования пораженных мышц свидетельствуют о преобладании в них функциональных нарушений. Несмотря на то, что в биоптатах мышц найдены участки рабдомиолиза и некротизированные мышечные волокна, данные изменения, как правило, мало выражены. Кроме того, было показано, что некротические изменения в мышцах одинаково характерны как для пациентов с ПС, так и без него [18]. Изменения мышц сопровождалось проявлениями специфической гиперферментемии [25]. О преобладании функциональных нарушений нейромышечной передачи при развитии ПС свидетельствуют результаты экспериментальных исследований, в которых были выявлены незначительные участки рабдомиолиза на фоне слабого окрашивания при определении холинэстеразной активности. Эти изменения позволили предположить, что патологический процесс, лежащий в основе этого синдрома, развивается по истечении определенного времени и сопряжен с нарушениями постсинаптических структур с последующей их десенситизацией при восстановлении скорости гидролиза ацетилхолина холинэстеразой. Данные изменения свидетельствуют о сходстве ПС с миастенией, для которой характерны нарушения постсинаптических процессов [24].

В настоящее время в качестве основных факторов, приводящих к развитию ПС, рассматриваются неадекватное лечение, продолжительный период времени между отравлением и началом антидотной терапии, в особенности позднее начало введения оксимов [27]. Широко распространена гипотеза о том, что развитие ПС связано со степенью и длительностью ингибирования АХЭ. Установлено, что ПС обычно встречается у отравленных с длительным и выраженным ингибированием АХЭ, однако само ингибирование не является определяющим в развитии синдрома [25,26]. В клиническом исследовании, включавшем 25 случаев отравлений ФОС тяжелой степени, было выявлено, что изменение активности бутирилхолинэстеразы плазмы крови коррелирует с тяжестью отравления, а ее кинетический профиль сопоставим с динамикой нарушений мышечной силы. Реактивационный потенциал холинэстеразы снижается по мере увеличения тяжести отравления и достигает наименьших значений при развитии ПС. Проведенное исследова-

ние дополняет ранее полученные данные о том, что активность бутирилхолинэстеразы отражает клинические проявления отравлений ФОС, а развитие ПС ассоциировано с длительным ингибированием фермента [28].

*Клиническая картина.* Манифестация клинических признаков ПС, как правило, происходит через 24-98 ч после воздействия яда, однако известны случаи, когда сроки развития ПС задерживались на несколько суток. Продолжительность ПС варьирует от 5 до 30 сут с момента появления первых симптомов. Риск смерти от ПС такой же высокий, как и при холинэргическом кризе. В связи с этим, длительное клиническое наблюдение за пораженными после окончания холинэргического криза считается обязательным для своевременной диагностики ПС. Даже незначительная задержка начала проведения ИВЛ может привести к смерти пораженных [9,10,17].

Обычно к моменту появления первых симптомов ПС у пораженных полностью исчезает холинэргическая симптоматика и наступает улучшение общего состояния. Типичный вариант манифестации ПС характеризуется появлением слабости и острых параличей лицевых, глазных (офтальмоплегия), небных мышц, сгибателей шеи и различной по выраженности слабости проксимальных мышц конечностей, в частности отводящих плечевых мышц и сгибателей бедра. При этом у пораженных появляются жалобы на сложность или невозможность поднять голову (не могут оторвать голову от подушки), двоение в глазах и поперхивание. Иногда у пораженных фиксируют паралич голосовой мускулатуры, который проявляется дисфонией [29]. У большинства пострадавших с ПС при обследовании выявляют ослабление или отсутствие глубоких сухожильных рефлексов. В редких случаях, напротив, определяют гиперрефлексию на фоне спастичности и дистонических реакций соответствующих мышц. Прогностически неблагоприятными симптомами являются неспособность больного в конце первых – начале вторых суток удерживать приподнятую над подушкой голову более 10 секунд, садиться в постели без помощи рук, значительное снижение показателей кистевой динамометрии [5]. Появление слабости мышц шеи в 70-80 % случаев является предиктором развития дыхательной недостаточности [10].

Достаточно часто манифестация ПС происходит на фоне рецидива или продолжающегося холинэргического криза [18,30,31]. В этих случаях у пораженных фиксируют нарастание холинэргической симптоматики в виде увеличения саливации и потоотделения, рецидивов бронхоспазма, бронхореи, диареи, брадикардии и фасцикуляций. Проявления ПС наиболее выражены у лиц с тяжелыми проявлениями холинэргиче-

ского криза продолжительностью 7-75 часов. ПС при благоприятном течении разрешается в течение 2-7 дней после манифестации [30]. Восстановление функции пораженных мышц обычно происходит в порядке развития параличей, при этом восстановление дыхательных мышц происходит в последнюю очередь [32].

Прогноз ПС, главным образом, зависит от тяжести дыхательных нарушений. Определяющим фактором является своевременность начала проведения ИВЛ. Считается, что если гипоксия не прогрессирует, а поддерживающая терапия дыхательной недостаточности проводится правильно, ПС благоприятно разрешается через 1-2 нед после манифестации [18, 30].

**Диагностика.** Основным методом диагностики ПС является электромиографическое (ЭМГ) исследование с использованием тестов электрической стимуляции одиночного мышечного волокна и повторной нейростимуляции.

Тест электрической стимуляции одиночного мышечного волокна позволяет выявлять субклинические изменения нейромышечной проводимости [33]. Частота нейромышечных нарушений, выявляемая при анализе потенциалов одиночного нервного волокна заметно выше, чем при использовании метода повторной нейростимуляции. При проведении данного теста к признакам развивающегося ПС относят увеличение средней последовательной разницы латентных периодов потенциалов единичного мышечного волокна при стимуляции с частотой 10-20 Гц [34].

Наиболее полное исследование динамики изменений показателей ЭМГ с разработкой предикторов и критериев тяжести ПС выполнено Р. Jayawardane с соавт. для теста повторной нейростимуляции [35]. В результате клинического исследования была разработана шкала тяжести ПС (таблица 1), которая соотносит динамику показателей ЭМГ со степенью слабости мышц. В качестве основного критерия манифестации ПС авторами предложено рассматривать развитие слабости мышц на уровне 3 баллов и менее по шкале MRC («Medical Research Council»).

Под декрементом понимают снижение величины одиночных М-ответов при повторной стимуляции, под инкрементом – увеличение.

Согласно разработанной классификации при формировании ПС наблюдают следующие ЭМГ-феномены: декремент-инкремент, комбинация декремент-инкремента с постепенным затуханием, выраженный декремент и прогрессирующий декремент. Декремент-инкрементный феномен наблюдали на фоне стимуляции с частотой 20-30 Гц при появлении незначительной и умеренной слабости мышц. По мере прогрессирования мышечной слабости происходит расширение диапазона частот, где фиксируют декремент-инкрементный ответ, до 10-30 Гц, а также появление комбинации декремент-инкремента с постепенным затуханием амплитуды ответа при стимуляции импульсами с частотой 20-30 Гц. Развитие выраженной слабости и паралича пораженных мышц сопровождается по-

Таблица 1

**Классификация степеней тяжести промежуточного синдрома в соответствие с показателями ЭМГ в тесте повторной нейростимуляции (Р. Jayawardane и соавт., 2008)**

Степень тяжесть ПС	Степень мышечной слабости (по шкале MRC)	ЭМГ признаки
Нет	Нет (5 баллов)	Нет изменений
Forme fruste, 1 стадия	Нет (5 баллов)	Декремент-инкремент при частоте 20-30 Гц
Forme fruste, 2 стадия	Умеренная (4 балла)	Декремент-инкремент при частоте 15-30 Гц
Forme fruste, 3 стадия	Средняя-тяжелая (2-3 балла)	Декремент-инкремент при частоте 10-30 Гц
Forme fruste, 4 стадия	Средняя-тяжелая (2-3 балла)	Декремент-инкремент при частоте 10-30 Гц с постепенным падением
Промежуточный синдром	Средняя-тяжелая (2-3 балла)	Тяжелый декремент при частоте 10-30 Гц, декремент-инкремент при частоте 1-3 Гц
Промежуточный синдром с дыхательной недостаточностью	Средняя-тяжелая (2-3 балла)	Тяжелый декремент при частоте 10-30 Гц с последующим прогрессирующим декрементом при частоте 10-30 Гц

явлением тяжелого декремента при стимуляции с частотой 10-30 Гц и декремент-инкрементного феномена в диапазоне частот 1-3 Гц. Такой ЭМГ-феномен, как правило, предшествует развитию дыхательной недостаточности. Для ПС с развитием паралича дыхательных мышц отмечено появление прогрессирующего декремента в диапазоне частот 10-30 Гц.

Авторы шкалы детерминировали ПС только при наличии в клинической картине слабости как минимум в 3-х группах мышц (глазные мышцы, сгибатели шеи, проксимальные мышцы конечности, мышцы лица). Те состояния, при которых клинически и в соответствии с ЭМГ-картиной наблюдали начальные симптомы поражения отдельных групп мышц, рассматривали как подобные ПС и называли «forme fruste». Более точное определение «forme fruste» учитывает появление слабости степенью более 3 баллов по шкале MRC (т.е. легкой, умеренной и средней степени по тяжести) в сгибателях шеи и проксимальных мышцах конечностей [35]. На основании электрофизиологических и клинических признаков для «forme fruste» также были определены степени тяжести (таблица 1). Однако, небольшое количество наблюдений при разработке диагностических критериев «forme fruste», а также отсутствие явной разницы в степени тяжести по показателю «мышечной слабости» в сравнении с самим ПС не в полной мере определяют практическую значимость данного состояния для тактики и прогноза лечения. Очевидно, что для широкого практического применения данной классификации требуется уточнение критериев степеней тяжести ПС с обоснованием их значимости для диагностики и тактики лечения.

Авторам исследования также удалось отследить изменения ЭМГ, характерные для восстановления пораженных мышц. В большинстве случаев при ПС тяжелой степени позитивные ЭМГ-изменения фиксировали внезапно и, как правило, они предшествовали улучшению в клиническом состоянии. Отмечено, что для ПС без развития дыхательной недостаточности, но при наличии на ЭМГ выраженного декремента или комбинации декремент-инкремента с постепенным затуханием, выздоровление происходило быстрее. При этом нормализацию ЭМГ-картины регистрировали в течение последующих 24 ч наблюдения. В случаях с тяжелым течением ПС на ранних этапах восстановления мышц регистрировали появление декрементных феноменов одинаковой амплитуды с 4-го по 10-й стимул. В дальнейшем, сначала отмечали появление декремент-инкремента с прогрессирующим падением амплитуды после 2-4-го стимула и градиентным увеличением амплитуды с 5-го по 10-й стимул, за которым следовало появление фено-

мена с максимальным декрементом при 2-м стимуле и инкрементом с постепенным восстановлением амплитуды до нормальных значений с 3-го по 10-й стимул.

Помимо электрофизиологических методик для диагностики, точнее для прогнозирования ПС, предложено использовать определение активности ацетилхолинэстеразы эритроцитов и бутирилхолинэстеразы плазмы крови. Клинически было оценено прогностическое значение динамики активности сывороточной ацетилхолинэстеразы через 1, 2, 3, 7 дней после отравления ФОС тяжелой степени. Было выявлено, что при отравлениях без развития ПС на 3 сут наблюдается статистически значимое восстановление активности АХЭ по отношению к значениям на 1 сут (36,12 % против 22,58 %;  $p < 0,001$ ), в то время как при манифестации синдрома активность фермента не изменяется (остаточная активность 18,92 % против 19,35 %) [36]. При использовании в качестве маркера развития ПС бутирилхолинэстеразы плазмы крови показано, что ее длительное ингибирование ассоциировано с тяжестью отравления и частотой ПС, при этом реактационный потенциал снижается по мере увеличения тяжести отравления и достигает наименьших значений у лиц при развитии ПС [28].

Учитывая характерную динамику показателей ЭМГ и активности холинэстеразы, в качестве маркера развития ПС предложено рассматривать снижение активности холинэстеразы ниже 200 ед. (менее 25 % от нормальных значений) с декрементным ответом в тесте повторной нейростимуляции при частоте 30 Гц [13].

Продолжаются исследования по поиску других лабораторных маркеров развития ПС. В частности, выявлена связь уровня креатинкиназы, в том числе МВ-фракции, и тропонина, с тяжестью отравления органофосфатами и развитием ПС [37]. Оказалось, что при тяжелых отравлениях уровень креатинкиназы и ее МВ-фракции существенно выше, чем при интоксикациях средней тяжести, при этом уровни ферментемии и тропонина в плазме были более высокими у пострадавших с клиническими проявлениями ПС, а наиболее выраженные изменения отмечали у лиц с дыхательной недостаточностью [37, 38]. Также, были установлены различия между отравлениями тяжелой и средней степени по уровню аспаратаминотрансферазы, однако без связи с частотой развития ПС [39].

*Профилактика и лечение.* В настоящее время способов специфической терапии ПС не разработано. Основные лечебные мероприятия включают применение традиционных способов этиотропной и дезинтоксикационной терапии, рекомендованных для отравлений АХЭС. Главным в лечении ПС остается своевременная диа-

гностики синдрома и при развитии паралича дыхательных мышц немедленное проведение ИВЛ с профилактическим введением антибактериальных средств [11, 18].

Важная особенность при проведении ИВЛ состоит в использовании недеполяризирующих миорелаксантов в минимальных дозах, поскольку применение деполаризирующих миорелаксантов, таких как суксаметоний, при отравлениях ФОС противопоказано. Требуемая продолжительность ИВЛ при ПС определяется тяжестью состояния и может составить срок от 5 до 21 сут. Обязательно, после окончания ИВЛ необходимо продолжать наблюдение за пострадавшими, контролируя сатурацию крови, парциальное давление кислорода и углекислого газа в артериальной и венозной крови. При отсутствии осложнений функция внешнего дыхания после ПС, как правило, полностью восстанавливается [23].

В целом, говоря о проблеме фармакологической терапии ПС, в первую очередь, следует рассматривать мероприятия, направленные на его профилактику в острый период отравления, а также на предупреждение паралича дыхательных мышц при появлении первых признаков синдрома. Именно на решение этих задач направлено большинство исследований, посвященных разработке способов терапии ПС [32, 40].

Наиболее обсуждаемой проблемой профилактики ПС является правильное применение реактиваторов холинэстеразы (РХЭ). Несмотря на многолетний опыт применения РХЭ, как препаратов антидотной терапии АХЭС, оптимальных схем их дозирования с целью профилактики ПС до сих пор не разработано [41, 42]. Более того, вопрос о целесообразности курсового применения РХЭ через 6-10 ч после начала интоксикации остается неясным. Например, в экспериментах на животных раннее введение оксимов предупреждало развитие ПС, в то время как назначение оксимов в высоких дозах в течение 2 часов после отравления не приводило к изменениям частоты и сроков манифестации синдрома [23]. Согласно данным метанализа 6 клинических исследований, посвященных оценке влияния применения РХЭ на показатели летальности, частоты развития ПС и потребности в проведении ИВЛ, было показано, что оксимы не столь эффективны при лечении отравлений ФОС, а в некоторых случаях их применение значимо ухудшает прогноз лечения по оцениваемым показателям [43]. В литературе представлено достаточно большое количество противоречивых данных об эффективности РХЭ для профилактики и лечения ПС (таблица 2).

Как видно из таблицы 2, результаты применения наиболее распространенного РХЭ - пралидоксима, свидетельствуют либо об отсутствии

значимого лечебного эффекта либо о его негативном действии, приводящем к утяжелению интоксикации и повышению частоты развития ПС. Напротив, в отличие от пралидоксима, при назначении обидоксима наблюдали положительный профилактический эффект, что подтверждалось динамикой показателей ЭМГ и активности АХЭ. У пораженных отмечали снижение частоты дыхательной недостаточности, сокращение срока госпитализации и летальности, а в некоторых случаях развития ПС вовсе не регистрировали [44,45].

Результаты клинических исследований подтверждают мнение о зависимости эффективности РХЭ от времени начала введения и длительности курса. Так, например, однократное применение пралидоксима оказалось более эффективным в сравнении с курсовым по показателю частоты развития ПС. При однократном введении пралидоксима частота ПС составила 39 %, в то время как при курсовом - 61 % [46]. Обидоксим также оказывал максимальный эффект при более раннем введении, в то время как при отсроченном введении провоцировал развитие нервно-мышечного блока [47]. В настоящее время в России для лечения отравлений ФОС используется препарат карбоксим, который хорошо зарекомендовал себя как средство антидотной и патогенетической терапии отравлений с целью купирования острого холиэргического криза, однако исследований его эффективности для профилактики и лечения ПС не проводилось.

Другое направление исследований по поиску схем терапии и профилактики ПС состоит в оптимизации схем дозирования холинолитиков. Как известно, основным холинолитическим средством для терапии отравлений ФОС остается атропин. Однако порядок его введения и механизмы дозирования остаются не до конца уточненными и зависят от клиники интоксикации [48]. В ходе ретроспективного анализа историй болезни была предпринята попытка изучить оптимальные режимы дозирования атропина при отравлениях ФОС посредством сравнения эффективности схем с длительностью его введения до 96 ч, а именно болюсного введения атропина и продолжающейся инфузии холинолитика с проведением атропинизации индивидуальными возрастающими дозами. В результате оказалось, что 2-ая схема применения атропина более эффективна, что подтверждалось снижением летальности с 22,5 % до 8 %, частоты развития ПС с 13,6 % до 4 % и частоты дыхательной недостаточности, требующей проведения ИВЛ, с 24,7 % до 8 % [49].

В литературе сообщается об успешном клиническом опыте применения других холинолитиков вместо атропина. В частности, применение

**Данные о клинической эффективности применения реактиваторов холинэстеразы  
для профилактики и лечения ПС**

Параметры клинического исследования	Схема дозирования	Данные об эффективности	Источник
Пралидоксим, 2 схемы применения	1-я схема – 1 г при поступлении; 2-я схема – курс длительностью 4 сут в суммарной дозе 12 г., начало ч/з 12 ч после отравления	Статистически значимое повышение частоты ПС с 39 % до 61 % при назначении пралидоксима по 2-й схеме.	[46,50]
Пралидоксим, рандомизированное плацебо-контролируемое, 1 схема, рекомендованная ВОЗ	30 мг/кг/ч в/в струйно при поступлении, далее 8 мг/кг/ч в/в капельно	В сравнении с плацебо нет различий в частоте развития ПС, тенденция к ухудшению состояния, не смотря на восстановление активности АХЭ	[51]
Сравнение эффективности обидоксима и пралидоксима	Нет данных	В сравнении с пралидоксимом при назначении обидоксима снижение частоты развития дыхательной недостаточности, срока госпитализации и летальности	[44]
Обидоксим, 1 схема, 12 случаев отравления паратионом	Нет данных	Случаев развития ПС не было. Восстановление активности АХЭ в течение 7 сут.	[45]
Обидоксим, различное время введения, 6 клинических случаев отравления ФОС	8-ми кратное введение с началом введения ч/з 12, 26, 66 ч. после начала интоксикации	При введении ч/з 12 ч улучшение ЭМГ в тесте повторной нейростимуляции с частотой 20 и 50 Гц без значимых изменений в динамике АХЭ; при введении ч/з 66 ч усиление нервно-мышечного блока	[47]
Пралидоксим, случай отравления малатионом	Курсовое введение в течение 8 сут в суммарной дозе 38,4 г	Не предупреждало развитие ПС	[52]

гликопирролата при интоксикации, рефрактерной к атропину, продемонстрировало высокую эффективность на стадии холинэргического криза и предупреждало прогрессирование ПС [53].

Учитывая ключевую роль в патогенезе ПС нарушений на уровне N-холинорецепторов предпринимаются попытки применения в комплексной терапии отравлений ФОС соединений, обладающих N-холинолитической активностью [54,55]. В клиническом исследовании с выборкой из 45 пациентов, тяжело отравленных карбофосом, была изучена эффективность применения d-тубокурарина и ардуана (пипекурония) в низких (релаксирующих) дозах (d-тубокурарин - 0,1 мг/кг, ардуан - 0,01 – 0,015 мг/кг) [55]. Показанием к применению миорелаксантов служили распространенные спонтанные и спровоцированные миофибрилляции. Препараты вводили в/в капельно до прекращения фибрилляций. В первые сутки интоксикации препараты обычно назнача-

ли двукратно, на вторые сутки при наличии фибрилляций выполняли одну инфузию. Результаты исследований продемонстрировали высокую эффективность ардуана, как средства профилактики ПС. Так, в группе получавшей ардуан, случаев смерти при развитии ПС не регистрировали, отмечали снижение частоты и длительности ПС. По данным кистевой динамометрии фиксировали более быстрое восстановление мышечной силы. При применении ардуана прослеживали тенденцию к снижению частоты и тяжести пневмоний. При этом, авторы исследования отметили важность пролонгированного введения препарата, поскольку конкурентные миорелаксанты отличаются кратковременным действием [54].

В качестве перспективного направления профилактики ПС рассматривается применение биоскавенджеров. В клиническом исследовании, включавшем 60 случаев отравления ФОС, была исследована эффективность свежзаморожен-

ной плазмы и 20 % раствора альбумина. Введение свежемороженой плазмы существенно увеличивало активность бутирилхолинэстеразы, однако на частоту развития ПС и потребность в проведении ИВЛ не влияло [55]. В другом клиническом исследовании, включавшем 33 случая отравлений ФОС, применение свежемороженой плазмы в дополнение к терапии атропином и пралидоксимом предупреждало развитие ПС и снижало смертность [56].

**Заключение.** Представленные в настоящем обзоре материалы подтверждают тот факт, что проблема промежуточного синдрома до сих пор остается нерешенной. Высокая частота и летальность, отсутствие четких диагностических критериев и факторов риска, а также эффективных способов профилактики и лечения определяют несомненную актуальность данной проблемы для токсикологии.

Проведенный в рамках настоящего обзора анализ современного состояния проблемы показал, что вопросы факторов риска и диагностических критериев ПС уже в значительной степени проработаны. Согласно данным литературы в качестве факторов риска ПС принято выделять:

- острое тяжелое отравление АХЭС;
- длительное более 3 сут ингибирование ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы на уровне менее 25 % по остаточной активности;
- позднее начало антидотной терапии (более 2 ч);
- позднее начало (через 24-48 ч) введения РХЭ;
- длительный холинэргический криз (более 24 ч).

Значительным достижением в вопросе диагностики ПС стала разработка клинической классификации (шкалы) ПС, которая связывает степень тяжести паралича мышц с динамикой ЭМГ-признаков в тесте повторной нейростимуляции. Кроме того, авторами классификации описаны изменения ЭМГ, характерные для стадии восстановления, и определены основные ЭМГ-предикторы развития дыхательной недостаточности, к которым относят:

- тяжелый декремент при стимуляции с частотой 10-30 Гц и декремент-инкрементный феномен при стимуляции с частотой 1-3 Гц;
- прогрессирующий декремент при стимуляции с частотой 10-30 Гц.

Несмотря на ряд недостатков разработанной классификации, главным из которых представляется недостаточная проработка практических аспектов, она, безусловно, является основной для последующих исследований, направленных на обоснование критериев оценки эффективности новых фармакологических схем профилактики и лечения ПС. Анализ динамики ЭМГ при про-

грессировании ПС свидетельствует о развитии характерных изменений на постсинаптическом уровне, объяснение которых имеет принципиальное значение для понимания природы патологического процесса. Наблюдаемый на ранних стадиях ПС декремент-инкрементный феномен, переходящий в выраженный декремент, свидетельствует о развитии деполяризационного нервно-мышечного блока и компенсаторной десенситизации рецепторов [35]. При тяжелом течении ПС с развитием дыхательной недостаточности на ЭМГ регистрировали появление прогрессирующего декремента, который предположительно связан с переходом деполяризационного блока в недеполяризационный [57]. Данные представления требуют экспериментального подтверждения, которые должны дать точную характеристику, с какого момента изменения ЭМГ следует трактовать как ПС и всегда ли развитие деполяризационного нервно-мышечного блока на этапе холинэргического криза предшествует ПС, какие изменения имеют обратимый характер, а какие не подвергаются фармакологической коррекции.

Наиболее сложными и мало изученными аспектами проблемы ПС представляются вопросы патогенеза и лечения. Для понимания патогенеза крайне важно исследовать причины и факторы, определяющие развитие поражений только определенных групп мышц.

Несмотря на многолетний опыт исследований по разработке антидотных средств терапии ФОС, вопросы их применения с учетом профилактики и лечения ПС не разработаны. Как правило, в качестве антидотных средств применяют комбинацию атропина с РХЭ. За рубежом в качестве последнего используют пралидоксим, в Российской Федерации – карбоксим. Очевидно, что при такой схеме терапии целенаправленного фармакологического воздействия на N-холинорецепторы не обеспечивается, что по-видимому при запоздалом введении антидотов и тяжелом отравлении с выраженным ингибированием АХЭ, может провоцировать развитие ПС.

С учетом принципиального значения сроков начала и длительности применения антидотных средств в развитии ПС, исследования по уточнению и пересмотру схем применения и дозирования РХЭ и холинолитиков с использованием разработанной классификации ЭМГ-признаков приобретают особую актуальность. Перспективным направлением исследований по разработке новых способов профилактики и лечения ПС следует считать применение препаратов, воздействующих на N-холинорецепторы и препятствующих переходу деполяризационного нервно-мышечного блока в недеполяризационный.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Abdollahi M.** Poisoning with anticholinesterase insecticides in Iran. In: Satoh T., Gupta R.C., eds. Anticholinesterase pesticides: metabolism, neurotoxicity, and epidemiology. John Wiley & Sons, Inc.; 2011: 433–446.
2. **Vasconcellos L.F., Leite A.C., Nascimento O.J.** Organophosphate-induced delayed neuropathy: case report. *Arq. Neuropsiquiatr.* 2002; 60: 1003–1007.
3. **Чепур С.В.** Отдаленные органофосфатные нейротоксические патогенез, профилактика и лечение. *Токсикологический вестник.* 2010; 3: 42–43.
4. **Senanayake N., Karaliedde L.** Neurotoxic effects of organophosphorus insecticides. An intermediate syndrome. *N. Engl. J. Med.* 1987; 316(13): 761–763
5. **Leon-S F.E., Pradilla A.G., Gamboa N., Vesga E.** Multiple system organ failure, intermediate syndrome, congenital myasthenic syndrome, and anticholinesterase treatment: the linkage is puzzling (letter; comment). *Journal of Toxicology – Clinical Toxicology.* 1996; 34 (2): 245–247.
6. **Karaliedde L., Wheeler H., Maclehorse R., Murray V.** Possible immediate and long-term health effects following exposure to chemical warfare agents. *Public Health.* 2000; 114 (4): 238–248.
7. **Çolak S., Erdoğan M.Ö., Baydin A., Afacan M.A., Kati C., Duran L.** Turk. Epidemiology of organophosphate intoxication and predictors of intermediate syndrome. *J. Med. Sci.* 2014; 44 (2): 279–282.
8. **Закурдаев В.В.** Токсическая миопатия при острой интоксикации ФОС. *Воен.-мед. журн.* 1986; 10: 49–51.
9. **De Bleecker J., Van Den Neucker K., Willens J.** The intermediate syndrome in organophosphate poisoning: presentation of a case and review of the literature. *Journal of Toxicology – Clinical Toxicology.* 1992; 30 (3): 321 – 329.
10. **Indira M., Andrews M.A., Rakesh T.P.** Incidence, predictors, and outcome of intermediate syndrome in cholinergic insecticide poisoning: a prospective observational cohort study. *Clin. Toxicol. (Phila).* 2013; 51 (9): 838–845.
11. **Hulse E.J., Davies J.O.J., Simpson A.J., Sciuto A.M., Eddleston M.** Respiratory complications of organophosphorus nerve agent and insecticide poisoning implications for respiratory and critical care. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2014; 12 (190): 1342–1354.
12. **Coulson J.** Predicting the intermediate syndrome in organophosphorus poisoning. *Indian J. Crit. Care Med.* 2015; 19 (7): 377–378.
13. **Abdollahi M., Karami-Mohajeri S.** A comprehensive review on experimental and clinical findings in intermediate syndrome caused by organophosphate poisoning. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2012; 258 (3): 309–314.
14. **Karami-Mohajeri S., Nikfar S., Abdollahi M.** A systematic review on the nerve-muscle electrophysiology in human organophosphorus pesticide exposure. *Human and Experimental Toxicology.* 2014; 33 (1): 92–102.
15. **Peter J.V., Jerobin J., Nair A., Bennett A., Samuel P., Chrispal A.** Clinical profile and outcome of patients hospitalized with dimethyl and diethyl organophosphate poisoning. *Clin. Toxicol.* 2010; 48 (9): 916–923.
16. **Lee F., Lin J.L.** Intermediate syndrome after organophosphate intoxication in patient with end-stage renal disease. *Ren. Fail.* 2006; 28 (2): 197–200.
17. **De Bleecker J.L.** The intermediate syndrome in organophosphate poisoning: an overview of experimental and clinical observations. *Journal of Toxicology – Clinical Toxicology.* 1995; 33(6): 683–686.
18. **De Bleecker J., Van den Neucker K., Colardyn F.** Intermediate syndrome in organophosphorus poisoning: a prospective study. *Crit. Care Med.* 1993; 21(11): 1706–1711.
19. **Ray D., Leicester U.K.** Organophosphorus esters: an evaluation of chronic neurotoxic effects. *Institute for Environment and Health;* 19
20. **Kwong T.C.** Organophosphorus pesticide: biochemistry and clinical toxicology. *Therapeutic Drug Monitoring.* 2002; 24 (1): 144–149.
21. **Khan S., Hemalatha R., Jeyaseelan L., Oommen A., Zachariah A.** Neuroparalysis and oxime efficacy in organophosphate poisoning: a study of butyrylcholinesterase. *Human & Experimental Toxicology.* 2001; 20 (4): 169–174.
22. **Sedgwick E.M., Senanayake N.** Pathophysiology of the intermediate syndrome of organophosphorus poisoning. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 1997; 62 (2): 201–202.
23. **Karaliedde L., Baker D., Marrs T.C.** Organophosphate-induced intermediate syndrome: aetiology and relationships with myopathy. *Toxicol. Rev.* 2006; 25 (1): 1–14.
24. **De Wilde V., Vogelaers D., Colardyn F., Vanderstraeten G., Van den Neucker K., De Bleecker J.** Postsynaptic neuromuscular dysfunction in organophosphate induced intermediate syndrome. *Klin. Wochenschr.* 1991; 69 (4): 177–183.
25. **John M., Oommen A., Zachariah A.** Muscle injury in organophosphorus poisoning and its role in the development of intermediate syndrome. *Neurotoxicology.* 2003; 24 (1): 43–
26. **Dandapani M., Zachariah A., Kavitha M.R., Jeyaseelan L., Oommen A.** Oxidative damage in intermediate syndrome of acute organophosphorus poisoning. *Ind. J. Med. Res.* 2003; 117: 253–259.
27. **Perayre Badia M., Leiva Badosa E., Pastó Cardona E., Jódar Massanés R.** Intermediate syndrome after organophosphate poisoning despite continuous infusion of pralidoxime. *An. Med. Interna.* 2007; 24 (3): 129–131.
28. **Khan S., Hemalatha R., Jeyaseelan L., Oommen A., Zachariah A.** Neuroparalysis and oxime efficacy in organophosphate poisoning: a study of butyrylcholinesterase. *Hum. Exp. Toxicol.* 2001; 20 (4): 169–1
29. **Jin Y.H., Jeong T.O., Lee J.B.** Isolated bilateral vocal cord paralysis with intermediate syndrome after organophosphate poisoning. *Clin. Toxicol.* 2008; 46 (5): 482–484.
30. **He F., Xu H., Qin F., Xu L., Huang J., He X.** Intermediate myasthenia syndrome following acute organophosphates poisoning—an analysis of 21 cases. *Hum. Exp. Toxicol.* 1998; 17 (1): 40–
31. **De Bleecker J., Willems J., Van Den Neucker K., De Reuck J., Vogelaers D.** Prolonged toxicity with intermediate syndrome after combined parathion and methyl parathion poisoning. *J. Toxicol.-Clin. Toxicol.* 1992; 30: 333–345.
32. **Palimar V.** Intermediate syndrome in organophosphorus poisoning. *JIAFM.* 2005; 27 (1): 28–30.
33. **Baker D.J., Sedgwick E.M.** Single fibre electromyographic changes in man after organophosphate exposure. *Hum. Exp. Toxicol.* 1996; 15 (5): 369–375.
34. **Dongren Y., Tao L., Fengsheng H.** Electroneurophysiological studies in rats of acute dimethoate poisoning. *Toxicol. Lett.* 1999; 107 (1–3): 249–254.
35. **Jayawardane P.** The Spectrum of Intermediate Syndrome Following Acute Organophosphate Poisoning: A Prospective Cohort Study from Sri Lanka. *PLoS Medicine.* 2008; 5 (7): 1143–1153.
36. **Aygun D., Doganay Z., Altintop L., Guven H., Onar M., Deniz T.** Serum acetylcholinesterase and prognosis of acute organophosphate poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 2002; 40 (7): 903–910.
37. **Chetan Kumar G., Bhuvana K., Venkatarathnamma P.N., Sarala N.** Serum creatine phosphokinase as predictor of intermediate syndrome in organophosphorus poisoning. *Indian J. Crit. Care Med.* 2015; 19 (7): 384–387.
38. **Wan W.G., Jiang L., Zheng S.C., Qiu H.M., Xuan D.D., Zou H.J.** Comprehensive analysis on variation of cardiac enzyme and troponin induced by acute organophosphorus poisoning. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 2012; 30 (6): 452–455.
39. **Aygun D., Erenler A.K., Karatas A.D., Baydin A.** Intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: correlation with initial serum levels of muscle enzymes. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 200; 100 (3): 201–204.
40. **Bird S.B., Krajacic P., Sawamoto K., Bunya N., Loro E., Khurana T.S.** Ann N.Y. Pharmacotherapy to protect the neuromuscular junction after acute organophosphorus pesticide poisoning. *Acad. Sci.* 2016; 1374 (1): 86–93.
41. **Eyer P., Worek F., Thiermann H., Eddleston M.** Paradox findings may challenge orthodox reasoning in acute organophosphate poisoning. *Chem. Biol. Interact.* 2010; 187 (1–3): 270–
42. **Buckley N.A., Eddleston M., Szincic L.** Oximes for acute organophosphate pesticide poisoning. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011; 2: CD005085.
43. **Rahimi R., Nikfar S., Abdollahi M.** Increased morbidity and mortality in acute human organophosphate-poisoned patients treated by oximes: a meta-analysis of clinical trials. *Hum. Exp. Toxicol.* 2006; 25 (3): 157–162.
44. **Chen J.G.** The therapeutic effects of obidoxime chloride on intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning. *Zhonghua Xiandai Zhong Xi Yi Za Zhi (Chin. J. Curr. Tradit.*
45. **West Med J.** 2004; 2: 945–946.
46. **Thiermann H., Szincic L., Eyer F., Worek F., Eyer P., Felgenhauer N.** Modern strategies in therapy of organophosphate poisoning. *Toxicol. Lett.* 1999; 107 (1–3): 233–239.
47. **Johnson S., Peter J.V., Thomas K., Jeyaseelan L., Cherian A.M.** Evaluation of two treatment regimens of pralidoxime (1 gm single bolus dose vs 12 gm infusion) in the management of organophosphorus poisoning. *J. Assoc. Physicians India.* 1996; 44 (8): 529–5
48. **Besser R., Weilemann L.S., Gutmann L.** Efficacy of obidoxime in human organophosphorus poisoning: determination by neuromuscular transmission studies. *Muscle Nerve.* 1995; 18 (1): 15–22.
49. **Paudyal B.P.** Organophosphorus poisoning. *J. Nepal Med. Assoc.* 2008; 47 (172): 251–258.
50. **Abedin M.J., Sayeed A.A., Basher A., Maude R.J., Hoque G., Faiz M.A.** Open-label randomized clinical trial of atropine bolus injection versus incremental boluses plus infusion for organophosphate poisoning in Bangladesh. *J. Med. Toxicol.* 2012; 8 (2): 108–117.
51. **Samuel J., Thomas K., Jeyaseelan L., Peter J.V., Cherian A.M.** Incidence of intermediate syndrome in organophosphorus poisoning. *J. Assoc. Physicians India.* 1995; 43 (5): 321–323.
52. **Pawar K.S., Bhoite R.R., Pillay G.P., Chavan S.C., Malshikare D.S., Garad S.G.** Continuous pralidoxime infusion versus repeated bolus injection to treat organophosphorus pesticide poisoning: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2006; 368 (9553): 2136–41
53. **Vucinic S., Antonijevic B., Ilic N.V., Ilic T.V.** Oxime and atropine failure to prevent intermediate syndrome development in acute organophosphate poisoning. *Vojnosanit. Pregl.* 2013; 70 (4): 420–423.
54. **Choi P.T., Quinonez L.G., Cook D.J., Baxter F., Whitehead L.** The use of glycopyrrolate in a case of intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning. *P. Can. J. Anaesth.* 1998; 45 (4): 337–340.
55. **Turner S.R., Chad J.E., Price M., Timperley C.M., Bird M., Green A.C., Tattersall J.E.H.** Protection against nerve agent poisoning by a noncompetitive nicotinic antagonist. [in special issue: Selected papers from the 13th Medical Chemical Defence Conference 2011: New Developments in the treatment of intoxications by chemical warfare agents with focus on neurotoxic agents] *Toxicology Letters.* 2011; 206 (1): 105–111.
56. **Бонитенко Ю.Ю., Бонитенко Е.Ю., Першин В.Н.** Конкурентные миорелаксанты и отравления фосфорорганическими инсектицидами. *Медицина.* 2004; 5 (9): 40–44.
57. **Pichamuthu K., Jerobin J., Nair A., John G., Kamalesh J., Thomas K., et al.** Bioscavenger therapy for organophosphate poisoning – an open-labeled pilot randomized trial comparing fresh frozen plasma or albumin with saline in acute organophosphate poisoning in humans. *Clin. Toxicol.* 2010; 48 (8): 813–819.
58. **Güven M., Sungur M., Eser B., Sari I., Altuntaş F.** The effects of fresh frozen plasma on cholinesterase levels and outcomes in patients with organophosphate poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 2004; 42 (5): 617–623.
- Journal of Toxicology – Clinical Toxicology. 1992; 30 (3): 321 – 329.
10. **Indira M., Andrews M.A., Rakesh T.P.** Incidence, predictors, and outcome of intermediate syndrome in cholinergic insecticide poisoning: a prospective observational cohort study. *Clin. Toxicol. (Phila).* 2013; 51 (9): 838–845.
11. **Hulse E.J., Davies J.O.J., Simpson A.J., Sciuto A.M., Eddleston M.** Respiratory complications of organophosphorus nerve agent and insecticide poisoning implications for respiratory and critical care. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2014; 12 (190):

## REFERENCES:

1. **Abdollahi M.** Poisoning with anticholinesterase insecticides in Iran. In: Satoh T., Gupta R.C., eds. Anticholinesterase pesticides: metabolism, neurotoxicity, and epidemiology. John Wiley & Sons, Inc.; 2011: 433–446.
2. **Vasconcellos L.F., Leite A.C., Nascimento O.J.** Organophosphate-induced delayed neuropathy: case report. *Arq. Neuropsiquiatr.* 2002; 60: 1003–1007.
3. **Чепур С.В.** Delayed organophosphate neuropathy: pathogenesis, prevention and treatment. *Токсикологический вестник.* 2010; 3: 42–43 (in Russian).
4. **Senanayake N., Karaliedde L.** Neurotoxic effects of organophosphorus insecticides. An intermediate syndrome. *N. Engl. J. Med.* 1987; 316 (13): 761–763
5. **Leon-S F.E., Pradilla A.G., Gamboa N., Vesga E.** Multiple system organ failure, intermediate syndrome, congenital myasthenic syndrome, and anticholinesterase treatment: the linkage is puzzling (letter; comment). *Journal of Toxicology – Clinical Toxicology.* 1996; 34 (2): 245–247.
6. **Karaliedde L., Wheeler H., Maclehorse R., Murray V.** Possible immediate and long-term health effects following exposure to chemical warfare agents. *Public Health.*

- effects of organophosphorus insecticides. An intermediate syndrome. *N. Engl. J. Med.* 1987; 316 (13): 761–763
5. **Leon-S F.E., Pradilla A.G., Gamboa N., Vesga E.** Multiple system organ failure, intermediate syndrome, congenital myasthenic syndrome, and anticholinesterase treatment: the linkage is puzzling (letter; comment). *Journal of Toxicology – Clinical Toxicology.* 1996; 34 (2): 245–247.
6. **Karaliedde L., Wheeler H., Maclehorse R., Murray V.** Possible immediate and long-term health effects following exposure to chemical warfare agents. *Public Health.*

- 2000; 114 (4): 238–248.
7. **Çolak S., Erdoğan M.Ö., Baydin A., Afacan M.A., Kati C., Duran L.** Turk. Epidemiology of organophosphate intoxication and predictors of intermediate syndrome. *J. Med. Sci.* 2014; 44 (2): 279–82.
8. **Zakurdaev V.V.** Toxic myopathy with acute intoxication of the WCF. *Voenno-meditsinskiy zhurnal.* 1986; 10: 49–51 (in Russian).
9. **De Bleecker J., Van Den Neucker K., Willens J.** The intermediate syndrome in organophosphate poisoning: presentation of a case and review of the literature.

- Journal of Toxicology – Clinical Toxicology. 1992; 30 (3): 321 – 329.
10. **Indira M., Andrews M.A., Rakesh T.P.** Incidence, predictors, and outcome of intermediate syndrome in cholinergic insecticide poisoning: a prospective observational cohort study. *Clin. Toxicol. (Phila).* 2013; 51 (9): 838–845.
11. **Hulse E.J., Davies J.O.J., Simpson A.J., Sciuto A.M., Eddleston M.** Respiratory complications of organophosphorus nerve agent and insecticide poisoning implications for respiratory and critical care. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2014; 12 (190):



1342-1354.

12. Coulson J. Predicting the intermediate syndrome in organophosphorus poisoning. *Indian J. Crit. Care Med.* 2015; 19 (7): 377-378.
13. Abdollahi M., Karami-Mohajeri S. A comprehensive review on experimental and clinical findings in intermediate syndrome caused by organophosphate poisoning. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2012; 258 (3): 309-314.
14. Karami-Mohajeri S., Nikfar S., Abdollahi M. A systematic review on the nerve-muscle electrophysiology in human organophosphorus pesticide exposure. *Human and Experimental Toxicology.* 2014; 33(1): 92-102.
15. Peter J.V., Jerobin J., Nair A., Bennett A., Samuel P., Chrispal A. Clinical profile and outcome of patients hospitalized with dimethyl and diethyl organophosphate poisoning. *Clin. Toxicol.* 2010; 48 (9): 916-923.
16. Lee F., Lin J.L. Intermediate syndrome after organophosphate intoxication in patient with end-stage renal disease. *Ren. Fail.* 2006; 28 (2): 197-200.
17. De Bleecker J.L. The intermediate syndrome in organophosphate poisoning: an overview of experimental and clinical observations. *Journal of Toxicology – Clinical Toxicology.* 1995; 33 (6): 683-686.
18. De Bleecker J., Van den Neucker K., Colardyn F. Intermediate syndrome in organophosphorus poisoning: a prospective study. *Crit. Care Med.* 1993; 21 (11): 1706-1711.
19. Ray D., Leicester U.K. Organophosphorus esters: an evaluation of chronic neurotoxic effects. *Institute for Environment and Health;* 19
20. Kwong T.C. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. *Therapeutic Drug Monitoring.* 2002; 24 (1): 144-149.
21. Khan S., Hemalatha R., Jeyaseelan L., Oommen A., Zachariah A. Neuroparalysis and oxime efficacy in organophosphate poisoning: a study of butyrylcholinesterase. *Human & Experimental Toxicology.* 2001; 20 (4): 169-174.
22. Sedgwick E.M., Senanayake N. Pathophysiology of the intermediate syndrome of organophosphorus poisoning. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 1997; 62 (2): 201-202.
23. Karaliedde L., Baker D., Marrs T.C. Organophosphate-induced intermediate syndrome: aetiology and relationships with myopathy. *Toxicol. Rev.* 2006; 25 (1): 1-14.
24. De Wilde V., Vogelaers D., Colardyn F., Vanderstraeten G., Van den Neucker K., De Bleecker J. Postsynaptic neuromuscular dysfunction in organophosphate induced intermediate syndrome. *Klin. Wochenschr.* 1991; 69 (4): 177-183.
25. John M., Oommen A., Zachariah A. Muscle injury in organophosphorus poisoning and its role in the development of intermediate syndrome. *Neurotoxicology.* 2003; 24 (1): 43-44.
26. Dandapani M., Zachariah A., Kavitha M.R., Jeyaseelan L., Oommen A. Oxidative damage in intermediate syndrome of acute organophosphorus poisoning. *Ind. J. Med. Res.* 2003; 117: 253-259.
27. Perayre Badia M., Leiva Badosa E., Pastó Cardona E., Jódar Massanés R.. Intermediate syndrome after organophosphate poisoning despite continuous infusion of pralidoxime. *An. Med. Interna.* 2007; 24 (3): 129-131.
28. Khan S., Hemalatha R., Jeyaseelan L., Oommen A., Zachariah A. Neuroparalysis and oxime efficacy in organophosphate poisoning: a study of butyrylcholinesterase. *Hum. Exp. Toxicol.* 2001; 20 (4): 169-174.
29. Jin Y.H., Jeong T.O., Lee J.B. Isolated bilateral vocal cord paralysis with intermediate syndrome after organophosphate poisoning. *Clin. Toxicol.* 2008; 46 (5): 482-484.
30. He F., Xu H., Qin F., Xu L., Huang J., He X. Intermediate myasthenia syndrome following acute organophosphates poisoning—an analysis of 21 cases. *Hum. Exp. Toxicol.* 1998; 17 (1): 40-41.
31. De Bleecker J., Willems J., Van Den Neucker K., De Reuck J., Vogelaers D. Prolonged toxicity with intermediate syndrome after combined parathion and methyl parathion poisoning. *J. Toxicol-Clin. Toxicol.* 1992; 30: 333-345.
32. Palimar V. Intermediate syndrome in organophosphorus poisoning. *JIAFM.* 2005; 27 (1): 28-30.
33. Baker D.J., Sedgwick E.M. Single fibre electromyographic changes in man after organophosphate exposure. *Hum. Exp. Toxicol.* 1996; 15 (5): 369-375.
34. Dongren Y., Tao L., Fengsheng H. Electroneurophysiological studies in rats of acute dimethoate poisoning. *Toxicol. Lett.* 1999; 107 (1-3): 249-254.
35. Jayawardane P. The Spectrum of Intermediate Syndrome Following Acute Organophosphate Poisoning: A Prospective Cohort Study from Sri Lanka. *PLoS Medicine.* 2008; 5 (7): 1143-1153.
36. Aygun D., Doganay Z., Altintop L., Guven H., Onar M., Deniz T. Serum acetylcholinesterase and prognosis of acute organophosphate poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 2002; 40 (7): 903-910.
37. Chetan Kumar G., Bhuvana K., Venkatarathnamma P.N., Sarala N. Serum creatine phosphokinase as predictor of intermediate syndrome in organophosphorus poisoning. *Indian J. Crit. Care Med.* 2015 Jul; 19 (7): 384-387.
38. Wan W.G., Jiang L., Zheng S.C., Qiu H.M., Xuan D.D., Zou H.J. Comprehensive analysis on variation of cardiac enzyme and troponin induced by acute organophosphorus poisoning. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 2012; 30 (6): 452-455.
39. Aygun D., Erenler A.K., Karatas A.D., Baydin A. Intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: correlation with initial serum levels of muscle enzymes. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2000; 100 (3): 201-204.
40. Bird S.B., Krajacic P., Sawamoto K., Bunya N., Loro E., Khurana T.S., Ann N.Y. Pharmacotherapy to protect the neuromuscular junction after acute organophosphorus pesticide poisoning. *Acad. Sci.* 2016; 1374 (1): 86-93.
41. Eyer P., Worek F., Thiermann H., Eddleston M. Paradox findings may challenge orthodox reasoning in acute organophosphate poisoning. *Chem Biol Interact.* 2010; 187 (1-3): 270-272.
42. Buckley N.A., Eddleston M., Szinicz L. Oximes for acute organophosphate pesticide poisoning. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011; 2: CD005085.
43. Rahimi R., Nikfar S., Abdollahi M. Increased morbidity and mortality in acute human organophosphate-poisoned patients treated by oximes: a meta-analysis of clinical trials. *Hum. Exp. Toxicol.* 2006; 25 (3): 157-162.
44. Chen J.G. The therapeutic effects of obidoxime chloride on intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning. *Zhonghua Xiandai Zhong Xi Yi Za Zhi (Chin. J. Curr. Tradit. Med.)* 2004; 2: 945-946.
45. West Med. J. 2004; 2: 945-946.
46. Thiermann H., Szinicz L., Eyer F., Worek F., Eyer P., Felgenhauer N. Modern strategies in therapy of organophosphate poisoning. *Toxicol. Lett.* 1999; 107 (1-3): 233-239.
47. Johnson S., Peter J.V., Thomas K., Jeyaseelan L., Cheria A.M. Evaluation of two treatment regimens of pralidoxime (1 gm single bolus dose vs 12 gm infusion) in the management of organophosphorus poisoning. *J. Assoc. Physicians India.* 1996; 44 (8): 529-5
48. Besser R., Weilemann L.S., Gutmann L. Efficacy of obidoxime in human organophosphorus poisoning: determination by neuromuscular transmission studies. *Muscle Nerve.* 1995; 18 (1): 15-22.
49. Paudyal B.P. Organophosphorus poisoning. *JNMA J. Nepal Med. Assoc.* 2008; 47 (172): 251-258.
50. Abedin M.J., Sayeed A.A., Basher A., Maude R.J., Hoque G., Faiz M.A. Open-label randomized clinical trial of atropine bolus injection versus incremental boluses plus infusion for organophosphate poisoning in Bangladesh. *J. Med. Toxicol.* 2012; 8 (2): 108-117.
51. Samuel J., Thomas K., Jeyaseelan L., Peter J.V., Cheria A.M. Incidence of intermediate syndrome in organophosphorus poisoning. *J. Assoc. Physicians India.* 1995; 43 (5): 321-323.
52. Pawar K.S., Bhoite R.R., Pillay C.P., Chavan S.C., Malshikare D.S., Garad S.G. Continuous pralidoxime infusion versus repeated bolus injection to treat organophosphorus pesticide poisoning: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2006; 368 (9553): 2136-41
53. Vucinic S., Antonijevic B., Ilic N.V., Ilic T.V. Oxime and atropine failure to prevent intermediate syndrome development in acute organophosphate poisoning. *Vojnosanit. Pregl.* 2013; 70 (4): 420-423.
54. Choi P.T., Quinonez L.G., Cook D.J., Baxter F., Whitehead L. The use of glycopyrrolate in a case of intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning. *P. Can. J. Anaesth.* 1998; 45 (4): 337-340.
55. Turner S.R., Chad J.E., Price M., Timperley C.M., Bird M., Green A.C., Tattersall J.E.H. Protection against nerve agent poisoning by a noncompetitive nicotinic antagonist. [in special issue: Selected papers from the 13th Medical Chemical Defence Conference 2011: New Developments in the treatment of intoxications by chemical warfare agents with focus on neurotoxic agents] *Toxicology Letters.* 2011; 206 (1): 105-111.
56. Bonitenko Yu.Yu., Bonitenko E.Yu., Pershin V.N. Competitive muscle relaxants and poisoning by organophosphorus insecticides. *Medline.* 2004; 5 (9): 40-44 (in Russian)
57. Pichamuthu K., Jerobin J., Nair A., John G., Kamalesh J., Thomas K., et al. Bioscavenger therapy for organophosphate poisoning – an open-labeled pilot randomized trial comparing fresh frozen plasma or albumin with saline in acute organophosphate poisoning in humans. *Clin. Toxicol.* 2010; 48 (8): 813-819.
58. Guven M., Sungur M., Eser B., Sari I., Altuntas F. The effects of fresh frozen plasma on cholinesterase levels and outcomes in patients with organophosphate poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 2004; 42 (5): 617-623.

M.A. Tyunin, S.V. Chepur, A.S. Gogolevsky, D.V. Selivanov, N.I. Burtseva, N.S. Ilyinskiy

## THE PROBLEM OF THE INTERMEDIATE SYNDROME FOLLOWING POISONING WITH ANTI-CHOLINESTERASE AGENTS

State Research and Test Institute of Military Medicine, S.M. Kirov Medical Military Academy, 195043, Saint-Petersburg, Russian Federation

Etiology and pathogenesis current concepts of the intermediate syndrome in cases of poisoning with anticholinesterase compounds (organophosphorus compounds, carbamates) are considered in the review. Characteristics of the syndrome clinical picture and its diagnostics methods using electromyography are presented. Data on the experience of broadly used basic antidotal agents (cholinesterase reactivators, M- and N-cholinoreceptors) and pathogenic therapy of poisonings were analyzed and summarized. To solve the problem, priority research directions were determined, such as search for formation mechanisms of the nondepolarizing neuromuscular blocker and development of methods for prophylaxis and therapy using drugs targeting N-cholinoreceptors.

**Keywords:** organophosphorus compounds, intermediate syndrome, electromyography, diagnostics, therapy.

Переработанный материал поступил в редакцию 18.07.2017 г.

# ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 502/504

## ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ТЕХНОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОДОРОСЛИ *CHLORELLA VULGARIS*

А. А. Асанова<sup>1</sup>, В.И. Полонский<sup>1</sup>,  
Ю. С. Григорьев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Красноярский  
государственный аграрный университет,  
Институт агроэкологических технологий,  
660049, г. Красноярск, Российская  
Федерация

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Сибирский федеральный  
университет, Институт экологии и  
географии, 660041, г. Красноярск,  
Российская Федерация

Применение наночастиц с каждым годом охватывает новые сферы производства. Их проникновение в окружающую среду возможно на любом этапе существования: от процесса изготовления до утилизации в составе конечного продукта, поэтому вероятные риски для различных объектов окружающей среды должны быть оценены. Целью настоящей работы является оценка влияния техногенных наночастиц на рост и фотосинтетическую активность *Chlorella vulgaris*. Исследованы токсические свойства трех видов наночастиц:  $TiO_2$  размером 100-190 нм,  $SiO_2$  размерами 10-15 нм и 100-120 нм. В качестве тест-организма использовали водоросль *Chlorella vulgaris* Beijer. Оценка токсичности наночастиц проводили по изменению относительного показателя замедленной флуоресценции (ОПЗФ), характеризующего фотосинтетическую активность микроводоросли. Воздействие на рост тест-культуры определяли по величине оптической плотности (ОП) водорослевой суспензии. Было установлено, что наночастицы  $TiO_2$  незначительно снижали рост и активность фотосинтетического аппарата клеток. Крупные частицы  $SiO_2$  оказались более токсичными, чем частицы меньшего размера. Для наночастиц 100-120 нм величина  $EC_{50}$  по показателю ОП составила 8 мг/дм<sup>3</sup>, тогда как частицы размером 10-15 нм не проявляли заметного влияния на рост культуры. По параметру ОПЗФ крупные частицы  $SiO_2$  также оказались более токсичными, чем мелкие.

**Ключевые слова:** наночастицы; нанотоксичность; *Chlorella vulgaris*; биотестирование; замедленная флуоресценция хлорофилла; оптическая плотность.

**Введение.** Производство и использование наночастиц в промышленных товарах с каждым годом возрастает [1]. Наночастицы диоксида кремния применяются в строительстве, катализе, в качестве пигментов красок, в фармацевтике, а наночастицы диоксида титана входят в состав солнцезащитных кремов, самоочищающихся поверхностей и красок, солнечных батарей [2]. Про-

никновение наночастиц в окружающую среду возможно на любом этапе их существования: от производства до утилизации в составе конечного продукта. Таким образом, увеличение выпуска последних неизбежно приводит к повышению содержания наночастиц в окружающей среде [3].

Вопрос оценки токсичности техногенных наночастиц активно решается методами биотести-

**Асанова Анастасия Андреевна (Asanova Anastasiya Andreevna)**, аспирант кафедры ландшафтной архитектуры, ботаники, агроэкологии Красноярского ГАУ, . 660049, г. Красноярск, nastasia.asanova@gmail.com;

**Полонский Вадим Игоревич (Polonskiy Vadim Igorevich)**; доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры ландшафтной архитектуры, ботаники, агроэкологии Красноярского ГАУ, 660049, г. Красноярск.

**Григорьев Юрий Сергеевич (Grigoriev Yuriy Sergeevich)**, кандидат биологических наук, ученое звание -доцент, профессор каф. экологии и природопользования Институт экологии и географии, Сибирский федеральный университет, 660041, г. Красноярск gr2897@gmail.com.

рования с использованием различных тест-организмов. Токсикологические эксперименты с наночастицами были выполнены на многих объектах, в том числе, водном рачке *Daphnia magna* [4, 5, 6], на бактериях *Escherichia coli* [7] и *Vibrio fischeri* [4] на одноклеточной водоросли *Pseudokirchneriella subcapitata* [5; 6], рыбах *Danio rerio* [5; 6; 8] и нематоды *Caenorhabditis elegans* [9]. Полученные данные свидетельствуют о широком диапазоне концентраций, оказывающих 50% подавление контролируемой функции у исследованных тест-организмов. Так, например, величина  $EC_{50}$  для наночастиц  $TiO_2$  лежит в диапазоне от 6,8–589 мг/л [10].

В связи с этим остается актуальным поиск наиболее чувствительного тест-организма(ов) для определения токсичности объектов окружающей среды, загрязненных наночастицами. Немаловажным качеством такого тест-объекта является время его ответной реакции на воздействие наночастиц.

*Целью настоящей работы* является оценка влияния наночастиц на рост и фотосинтетическую активность *Chlorella vulgaris*. Обе эти тест-функции позволяют оперативно устанавливать степень воздействия токсических веществ на клетки водоросли [11; 12] и уже были применены для оценки токсичности наночастиц [13].

**Материалы и методы исследования.** В качестве объекта исследования были взяты наночастицы, наиболее часто применяемые при производстве потребительских товаров. В работе использована порошкообразная смесь наноразмерных частиц диоксида титана ( $TiO_2$ ) анатаза и рутила сферической формы с размером частиц 100–190 нм. Кроме того использован диоксид кремния ( $SiO_2$ ) в виде препарата «Plasmotherm» (Россия), который имел размер наночастиц 10–15 нм и 100–120 нм. Для получения более высокой дисперсности материала суспензии в течение 30 минут подвергали ультразвуковой обработке с частотой 35 кГц в приборе Wise Clean (Dihan).

Оценка токсического воздействия наночастиц определялась на культуре пресноводной микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijer, находящейся в экспоненциальной стадии роста. Хлорелла культивировалась на 50% среде Тамия в культиваторе КВ-05 при температуре 36°C и непрерывном облучении белым светом от светодиодных источников интенсивностью 60 Вт/м<sup>2</sup>. Поступление углекислого газа из воздушной среды (0,03%) обеспечивалось активным перемешиванием растущей культуры водоросли.

Биотестирование проводилось согласно методике [14] в многокюветном культиваторе КВМ-05. Прирост тест-культур оценивали по изменению оптической плотности суспензии водоросли с помощью прибора ИПС-03. Начальная оптиче-

ская плотность засеваемых тест-культур водоросли во флаконе диаметром 2 см при длине волны 560 нм составляла 0,005. Численность клеток такой культуры, определяемая прямым счетом в камере Горяева, составляла 60-70 тысяч клеток/см<sup>3</sup>. За 22 часа культивирования оптическая плотность водорослевой суспензии в контрольном варианте опыта увеличивалась до 0,150±0,030, т.е. в 30 раз. Каждый из 6-ти вариантов экспериментов, одновременно проводимых в культиваторе КВМ-05, выполнялся в 4-х аналитических повторностях (параллелях). Снижение оптической плотности в опытных образцах по отношению к контролю в процентном отношении рассчитывали по формуле:  $= 100\% \cdot (-) /$ , где и средние значения оптической плотности в контроле и в опыте, соответственно.

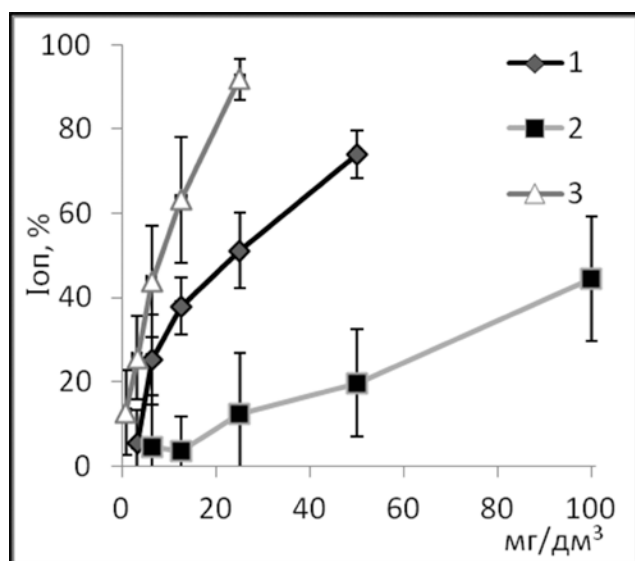
Оценка токсичности по изменению относительного показателя замедленной флуоресценции (ОПЗФ) тест-культуры водоросли хлорелла выполнялась по методике [12] на флуориметре Фотон 10. Величина данного показателя, представляющего собой отношение интенсивностей миллисекундной замедленной флуоресценции при возбуждении светом высокой и низкой интенсивностей, многократно снижается при подавлении фотосинтетической активности растительных клеток [15].

Для оценки токсичности наночастиц по показателю ОПЗФ в опытные кюветы вносили по 5 см<sup>3</sup> препаратов частиц различной концентрации, в контрольном варианте использовали дистиллированную воду. Тест-культуру водоросли с оптической плотностью 0,5 добавляли в кюветы в объеме 0,25 см<sup>3</sup>. В результате концентрация клеток кюветах составляла около 300 тысяч клеток/см<sup>3</sup>. Перед измерением ОПЗФ пробы в течение 1 часа подвергались засветке в культиваторе КВМ-05 при температуре 36±1°C. Отдельные эксперименты проводили без 1-часовой световой экспозиции. Снижение величины ОПЗФ в опытных образцах по отношению к контролю рассчитывали по формуле:  $= 100\% \cdot (-) /$ , где и средние значения ОПЗФ в контроле и опыте, соответственно.

В качестве критерия токсичности использовалась  $EC_{50}$  - концентрация наночастиц, при которой значения ЮП и ИЗФ тест-культуры хлореллы снижались по отношению к контролю на 50%. Определение каждой экспериментальной точки проводили в пяти повторностях. При статистической обработке результатов использовали критерий t Стьюдента, достоверными считали различия при  $p \leq 0.05$ .

#### Результаты и обсуждение

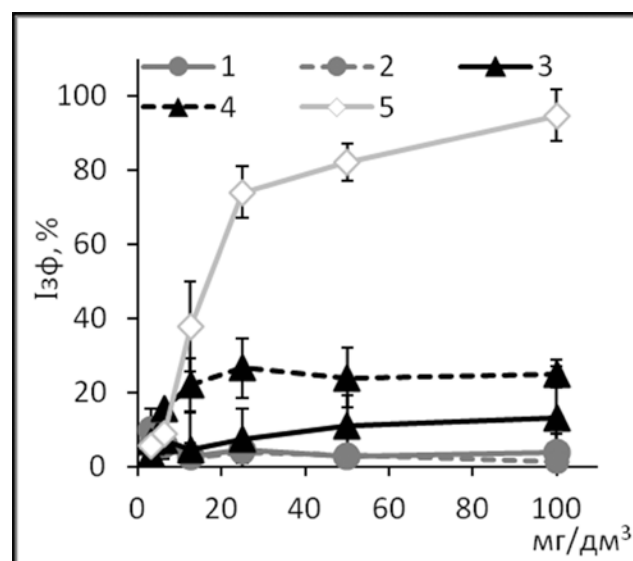
В первой серии экспериментов исследовали воздействие наночастиц диоксида титана на тест-культуру водоросли хлорелла. Полученные результаты, представленные на рисунке 1, по-



**Рис. 1.** Индекс снижения оптической плотности суспензии хлореллы по отношению к контрольному варианту после 22 часов культивирования при различных концентрациях: 1 – диоксида титана, 2 – диоксида кремния размером 10-15 нм, 3 – диоксида кремния размером 100-120 нм.

казывают, что в присутствии высокой концентрации диоксида титана в среде, наблюдается подавление прироста водоросли, значение  $EC_{50}$  составило 26 мг/дм<sup>3</sup> (табл.). При изучении влияния этих же наночастиц на ОПЗФ хлореллы не было зарегистрировано сколько-либо значительного снижения величины данного показателя в диапазоне концентраций до 100 мг/дм<sup>3</sup> (рис. 2). Очевидно, исследуемые наночастицы не оказывали прямого воздействия на первичные реакции фотосинтеза. Некоторое снижение ОПЗФ хлореллы в присутствии наночастиц титана удалось зарегистрировать только после 1-часовой засветки.

Исследование токсичности наноразмерного диоксида титана, выполненные на других тест-организмах, показали, что для водоросли *Desmodesmus subspicatus* 50% снижение роста в присутствии частиц размером 25 и 100 нм наблюдалось при 4 мг/дм<sup>3</sup> и 50 мг/дм<sup>3</sup>, соответственно [6]. Аналогичное торможение роста водоросли *Pseudokirchneriella subcapitata* наночастицами диоксида титана имело место при концентрации 5,8 мг/дм<sup>3</sup> [8]. В работе [16] показано, что величина  $EC_{50}$  в снижении роста водоросли *Chlorella* sp наночастицами анатаза с размером <25 нм составила 16,1 мг/дм<sup>3</sup>. В другой работе [17] такое же воздействие на рост этими наночастицами с размерами 5-10 нм имело место при концентрации 4,9 мг/дм<sup>3</sup>. Таким образом, наночастицы диоксида титана вызывают снижение роста тест-культур водорослей, степень которого, вероятно, зависит от размера и формы частиц, а также от видовой специфики объекта.



**Рис. 2.** Индекс снижения относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли при различной концентрации наночастиц: 1 и 2 – диоксида кремния размером 10-15 нм, 3 и 4 – диоксида титана до и после световой экспозиции, соответственно; 5 – диоксида кремния размером 100-120 нм до световой экспозиции.

Исследования характера влияния наночастиц диоксида кремния на прирост водоросли хлореллы показали (рис. 1), что частицы размером 10-15 нм оказывали существенно меньшее воздействие, чем более крупные частицы (100-120 нм). Так, если для частиц большего размера 50% подавление роста наблюдалось при концентрации 8 мг/дм<sup>3</sup>, то для мелких частиц такого воздействия не было выявлено даже при концентрации 100 мг/дм<sup>3</sup>.

Эксперименты, выполненные другими авторами с относительно мелкими наночастицами диоксида кремния (20-50 нм), также не выявили заметного эффекта на прирост водоросли *Chlorella* sp. в диапазоне концентраций до 1000 мг/дм<sup>3</sup> [18]. Вместе с тем, при использовании в качестве тест-объекта других видов водорослей были получены иные результаты. Так, на культуре *Phaeodactylum tricornutum* меньшая токсичность отмечена для более крупных наночастиц диоксида кремния. Значения  $EC_{50}$  для наночастиц размерами 14 нм, 22 нм и 300 нм составили 48,6 мг/дм<sup>3</sup>, 160 мг/дм<sup>3</sup> и 225 мг/дм<sup>3</sup>, соответственно [19]. Аналогичное действие наночастиц диоксида кремния (5, 26, 78 нм) показано на культуре *Chlorella kessler* – большей токсичностью обладали частицы меньшего размера [20].

Изучение влияния наночастиц кремния на ОПЗФ водоросли хлореллы показало (рис. 2), что внесение в среде частиц размером 100-120 нм приводило к быстрому снижению данного показателя, свидетельствуя о подавлении фотосинтетической функции тест-организма. Значение  $EC_{50}$  составило 16 мг/дм<sup>3</sup>. После 1-часовой экспозиции

Таблица

**Значения  $EC_{50}$  тест-культуры водоросли хлорелла, рассчитанные по воздействию наночастиц на прирост (ОП) и замедленную флуоресценцию (ОПЗФ)**

Вид наночастиц	Размер наночастиц, нм	Значения $EC_{50}$ , мг/дм <sup>3</sup>		
		снижение прироста (ОП)	снижение ОПЗФ	
			без световой экспозиции	после световой экспозиции
SiO <sub>2</sub>	10-15	>100	>100	>100
SiO <sub>2</sub>	100-120	8,1 ± 0,5	16 ± 1	-*
TiO <sub>2</sub>	100-190	26,0 ± 1,4	>100	>100

\*Не определялось

эффект на ЗФ усиливался и проявлялся в снижении свечения при возбуждении светом как высокой, так и низкой интенсивности. Наночастицы диоксида кремния размером 10-15 нм (рис. 2) практически не оказывали влияние на величину ОПЗФ водоросли в диапазоне до 100 мг/дм<sup>3</sup>. Дополнительная засветка не усилила воздействия этих наночастиц на фотосинтез водоросли.

Эти данные согласуются результатами работы [19], в которой найдено, что токсический эффект на водоросль *Chlorella vulgaris* крупных частиц диоксида кремния размером 300 нм, оцениваемый по снижению интенсивности флуоресценции, был существенно большим, чем частиц с меньшими размерами (14 и 22 нм).

**Заключение.** Таким образом, проведенные нами исследования показали, что наиболее сильное негативное воздействие на водоросль *Chlorella vulgaris* Beijer оказывали наночастицы диоксида кремния размером 100-120 нм. Биотест по воздействию исследованных наночастиц на прирост тест-культуры водоросли хлорелла является более чувствительным по сравнению с параметром ОПЗФ хлорофилла. Однако введение процедуры непродолжительной предварительной засветки тест-культуры в тестируемой пробе делает биотест на основе замедленной флуоресценции весьма перспективным для проведения оперативного мониторинга загрязнения водных сред наночастицами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kessler R. Engineered nanoparticles in consumer products: understanding a new ingredient. *Environ Health Perspect.* 2011; 119 (3): A120-A1
- Contado C. Nanomaterials in consumer products: a challenging analytical problem. *Frontiers in chemistry.* 2015; 3: 1-
- Sun T., Gottschalk F., Hungerbuehler K., Nowack B. Comprehensive probabilistic modelling of environmental emissions of engineered nanomaterials. *Environmental Pollution.* 2014; 185: 69-
- Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.-C., Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere.* 2008; 71 (7): 1308-1316.
- Ribeiro F., Gallego-Urrea J., Jurkschat K., Crossley A., Hasselov M., Taylor C. et al. Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Science of the Total Environment.* 2014; 466: 232-2
- Hund-Rinke K., Baun A., Cupi D., Fernandes T., Handy R., Kinross J. et al. Regulatory ecotoxicity testing of nanomaterials proposed modifications of OECD test guidelines based on laboratory experience with silver and titanium dioxide nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2016; 10 (10): 1442-1447.
- Planchon M., Ferrari R., Guyot F., Gelabert A., Menguy N., Chaneac C. et al. Interaction between *Escherichia coli* and TiO<sub>2</sub> nanoparticles in natural and artificial waters. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2013; 102: 158-1
- Aruoja V., Dubourguier H.C., Kasemets K., Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the total environment.* 2009; 407 (4): 1461-1468.
- Angelstorff J.S., Ahlf W., Kammer F., Heise S. Impact of particle size and light exposure on the effects of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 2014; 33 (10): 2288-2296.
- Juganson K., Ivask A., Blinova I., Mortimer M., Kahru A. Nano E-Tox: New and in-depth database concerning ecotoxicity of nanomaterials. *Beilstein Journal of Nanotechnology.* 2015; 6 (1): 1788-1804.
- ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 / Т 16.1:2:2:3:3.7-Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления, М., 20
- ПНД Ф Т 14.1:2:4.16-09 / Т 16.1:2:3:3.14-Методика измерений относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления, М., 20
- Morgaleva T.G., Morgalev Y.N., Gosteva I.A., Morgalev S.Y. Range of Resistance of Hydrobionts to Medium Contamination with Manufactured Nanoparticles. *Nano Hybrids and Composites. Trans Tech Publications.* 2017; 13: 279-2
- ФП.1.39.2010.09103 Методика определения индекса токсичности нанопорошков, изделий из наноматериалов, нанопокровий, отходов и осадков сточных вод, содержащих наночастицы, по изменению оптической плотности тест - культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer).
- Григорьев Ю.С., Андреев А.А., Кравчук И.С., Гекк П.И. Способ биотестирования токсичности вод и водных растворов // Патент РФ на изобретение № 2482474, опубл. 20.05.20Бюл. № 16. Sadiq I.M., Dalai S., Chandrasekaran N., Mukherjee A. Ecotoxicity study of titania (TiO<sub>2</sub>) NPs on two microalgae species: *Scenedesmus* sp and *Chlorella* sp. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2011; 74 (5): 1180-11
- Lin D., Ji J., Long Z., Yang K., Wu F. The influence of dissolved and surface-bound humic acid on the toxicity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles to *Chlorella* sp. *Water Research.* 2012; 46 (14): 4477-44
- Ji J., Long Z., Lin D. Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella* sp. *Chemistry Engineering Journal.* 2011; 170 (2-3): 525-5
- Clement L., Zenerino A., Hurel C., Amigoni S., Givenchy E., Guittard F. et al. Toxicity assessment of silica nanoparticles, functionalised silica nanoparticles, and HASE-grafted silica nanoparticles. *Science of the Total Environment.* 2013; 450: P. 120-128.
- Fujiwara K., Suematsu H., Kiyomiya E., Aoki M., Sato M., Moritoki N. Size-dependent toxicity of silica nanoparticles to *Chlorella kessleri*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A.* 2008; 43 (10): 1167-1173.

## REFERENCES:

1. Kessler R. Engineered nanoparticles in consumer products: understanding a new ingredient. *Environ Health Perspect.* 2011; 119 (3): A120-A1
2. Contado C. Nanomaterials in consumer products: a challenging analytical problem. *Frontiers in chemistry.* 2015; 3: 1-
3. Sun T., Gottschalk F., Hungerbühler K., Nowack B. Comprehensive probabilistic modelling of environmental emissions of engineered nanomaterials. *Environmental Pollution.* 2014; 185: 69-
4. Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.-C., Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere.* 2008; 71 (7): 1308-1316.
5. Ribeiro F., Gallego-Urrea J., Jurkschat K., Crossley A., Hasselov M., Taylor C. et al. Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Science of the Total Environment.* 2014; 466: 232-2
6. Hund-Rinke K., Baun A., Cupi D., Fernandes T., Handy R., Kinross J. et al. Regulatory ecotoxicity testing of nanomaterials proposed modifications of OECD test guidelines based on laboratory experience with silver and titanium dioxide nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2016; 10 (10): 1442-1447.
7. Planchon M., Ferrari R., Guyot F., Gelabert A., Menguy N., Chaneac C. et al. Interaction between *Escherichia coli* and TiO<sub>2</sub> nanoparticles in natural and artificial waters. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2013; 102: 158-1
8. Aroja V., Dubourguier H.C., Kasemets K., Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the total environment.* 2009; 407 (4): 1461-1468.
9. Angelstorf J.S., Ahlf W., Kammer F., Heise S. Impact of particle size and light exposure on the effects of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 2014; 33 (10): 2288-2296.
10. Juganson K., Ivask A., Blinova I., Mortimer M., Kahru A. Nano E-Tox: New and in-depth database concerning ecotoxicity of nanomaterials. *Beilstein Journal of Nanotechnology.* 2015; 6 (1): 1788-1804.
11. PND FT 14.1:2:3:4.10-04 / T 16.1:2:2.3:3.7-Method for determining the toxicity of samples from surface fresh, subsoil, drinking waters, wastewaters, water extracts from soils, sewage sludge, and wastes by changes in the optical density of algae *Chlorella (Chlorella vulgaris Beijer)*, Moscow, 2014, (in Russian).
12. PND FT 14.1:2:4.16-09 / T 16.1:2:3:3.14-Method for determining the toxicity of drinking, natural and sewage water, water extracts from soils, sewage sludge and waste water by changing the relative index of delayed fluorescence of algae *Chlorella (Chlorella vulgaris Beijer)*, Moscow, 2014, (in Russian).
13. Morgaleva T.G., Morgalev Y.N., Gosteva I.A., Morgalev S.Y. Range of Resistance of Hydrobionts to Medium Contamination with Manufactured Nanoparticles. *Nano Hybrids and Composites.* Trans Tech Publications. 2017; 13: 279-2
14. Federal Register of the Russian Federation 1.39.2010.091Method for determination the toxicity index of nanopowders, products from nanomaterials, nanocoats, wastes and sludge sediments containing nanoparticles by changing the optical density of algae *Chlorella (Chlorella vulgaris Beijer)*, (in Russian).
15. Grigoriev Yu.S., Andreev A.A., Kravchuk I.S., Gekkk P.I. Method of biotesting the toxicity of water and aqueous solutions. Patent of the Russian Federation for invention № 2482474, publ. 05/20/20Bul. No. 14, (in Russian).
16. Sadiq I.M., Dalai S., Chandrasekaran N., Mukherjee A. Ecotoxicity study of titania (TiO<sub>2</sub>) NPs on two microalgae species: *Scenedesmus sp* and *Chlorella sp.* *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2011; 74 (5): 1180-11
17. Lin D., Ji J., Long Z., Yang K., Wu F. The influence of dissolved and surface-bound humic acid on the toxicity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles to *Chlorella sp.* *Water Research.* 2012; 46 (14): 4477-44
18. Ji J., Long Z., Lin D. Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella sp.* *Chemistry Engineering Journal.* 2011; 170 (2-3): 525-5
19. Clement L., Zenerino A., Hurel C., Amigoni S., Givenchy E., Guittard F. et al. Toxicity assessment of silica nanoparticles, functionalised silica nanoparticles, and HASE-grafted silica nanoparticles. *Science of the Total Environment.* 2013; 450: P. 120-128.
20. Fujiwara K., Suematsu H., Kiyomiya E., Aoki M., Sato M., Moritoki N. Size-dependent toxicity of silica nanoparticles to *Chlorella kessleri*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A.* 2008; 43 (10): 1167-1173.

A.A. Asanova<sup>1</sup>, V.I. Polonskiy<sup>1</sup>, Y.S. Grigoriev<sup>2</sup>

## TOXICITY ASSESSMENT OF ENGINEERED NANOPARTICLES USING ALGAE CHLORELLA VULGARIS

<sup>1</sup>Krasnoyarsk State Agricultural University, 660049, Krasnoyarsk, Russian Federation

<sup>2</sup>Siberian Federal University, 660041, Krasnoyarsk, Russian Federation

The use of nanoparticles covers new spheres of production every year. Their release into the environment is possible at any stage of their lifespan: from the manufacturing process to the utilization in the final product; therefore potential risks they pose for various environmental objects should be evaluated. The purpose of this work was to assess the effect of technogenic nanoparticles on *Chlorella vulgaris* growth and photosynthetic activity. Toxic properties of three types of nanoparticles TiO<sub>2</sub> with a size of 100 to 190 nm, SiO<sub>2</sub> with dimensions of 10-15 nm and 100-120 nm have been studied. *Chlorella vulgaris* Beijer alga was used as test organism. The evaluation of nanoparticles toxicity was based on changes in the relative delayed fluorescence index (RDFI), which characterizes the photosynthetic activity of microalgae. The effect on the growth of the test culture was determined from the optical density (OD) of the algal suspension. It was found that the TiO<sub>2</sub> nanoparticles slightly reduced the growth and activity of the cell photosynthetic apparatus. Large particles of SiO<sub>2</sub> proved to be more toxic than smaller ones. For nanoparticles of 100-120 nm size, the EC<sub>50</sub> value according to the OD index was 8 mg/dm<sup>3</sup>, while the particles measuring 10-15 nm did not show a significant effect on the growth of the culture. Large SiO<sub>2</sub> particles also appeared more toxic than small particles, judging by RDFI parameter.

**Keywords:** nanoparticles; nanotoxicity; *Chlorella vulgaris*; biotesting; delayed fluorescence of chlorophyll; optical density..

Материал поступил в редакцию 10.04.2017 г.

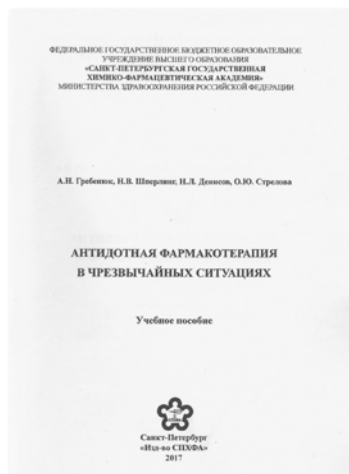
## НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

**Гребенюк А.Н., Шперлинг Н.В.,  
Денисов Н.Л., Стрелова О.Ю.**  
**Антидотная фармакотерапия  
в чрезвычайных ситуациях.**  
– СПб: Изд-во СПХФА, 2017. – 92 с.

Стремительная химизация общества, которая наблюдается в последние годы, приводит к повышению вероятности развития химических аварий и катастроф с поражением значительных контингентов людей. При ликвидации медико-санитарных последствий подобных чрезвычайных ситуаций важная роль принадлежит антидотам (противоядиям) – средствам, способным устранять или значительно ослаблять специфические токсические эффекты ядовитых химических веществ или их токсичных метаболитов. Грамотное и своевременное использование антидотов может сохранить здоровье и даже спасти жизнь отравленных, но для этого необходимо предварительно создать достаточные запасы этих лекарственных средств в медицинских учреждениях (организациях), а главное – обучить медицинский персонал правилам истребования, хранения и применения. Решению этой важной научно-практической задачи токсикологии и медицины катастроф посвящено учебное пособие «Антидотная фармакотерапия в чрезвычайных ситуациях» для студентов фармацевтических вузов, изданное Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академией в 2017 году.

Пособие подготовлено в соответствии с действующим Федеральным Государственным образовательным стандартом (ФГОС 3+) по специальности 060301.65 – «Фармация» в соответствии с учебной программой раздела «Токсикология и медицинская защита» учебной дисциплины «Безопасность жизнедеятельности. Медицина катастроф» и программой дисциплины «Токсикологическая химия». Пособие предназначено для студентов фармацевтических вузов и факультетов, но также может быть использовано для подготовки по токсикологии и медицине катастроф студентов медицинских вузов (факультетов) и в системе дополнительного профессионального образования врачей.

В пособии рассматриваются основные понятия и закономерности токсикологии, вопросы медицины чрезвычайных ситуаций и практические



аспекты оказания медицинской помощи пораженным при химических авариях и катастрофах. В главе 1 представлены определения основных понятий, использующихся в токсикологии, описаны пути поступления, распределения и выведения ядов из организма, а также варианты их биотрансформации. Здесь же приведены сведения об особенностях местного, рефлекторного и резорбтивного действия токсикантов, основные механизмы действия ядов на биологические структуры и факторы, определяющие их токсичность. В завершении этой главы дана характеристика основных патологических синдромов, развивающихся при острых отравлениях (синдромы поражения нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной систем, желудочно-кишечного тракта, крови, органов зрения и слуха, костно-мышечной системы), а также приведены основные принципы диагностики массовых отравлений химическими веществами.

Во второй главе представлена подробная характеристика очагов химических поражений, формирующихся при чрезвычайных ситуациях. В частности, здесь дана систематизация высокотоксичных химических веществ, потенциально опасных для человека, указаны источники массовых отравлений этими веществами в мирное и военное время, приведены особенности формирования очагов химического поражения, динамика и структура санитарных потерь в этих очагах.

Глава 3 посвящена антидотам – их классификации, основным механизмам действия и способам применения. В ней приводится детальная характеристика физико-химических антидотов (адсорбентов), химических или токсикотропных антидотов, биохимических (метаболических, токсикокинетических) антидотов, физиологических (фармакологических) антидотов, антидотов – модификаторов метаболизма ядов и иммунологических (иммунных) антидотов. Описание всех этих групп антидотов сопровождается не только представлением теоретических аспектов механизма действия тех или иных противоядий, но и конкретными примерами особенностей применения зарегистрированных в РФ антидотов.

В главе 4 аккумулированы сведения о принципах проведения антидотной терапии и ее месте в общей системе оказания медицинской помощи при чрезвычайных ситуациях. Подробно описаны средства и способы прекращения поступления токсикантов в организм, методы удаления невсосавшегося и всосавшегося яда из организма, мероприятия по восстановлению и поддержанию нарушенных жизненно важных функций организма и устранению отдельных, наиболее опасных симптомов интоксикации. Особый интерес вызывает подробное описание принципов применения антидотов и часто встречающихся ошибок антидотной терапии острых интоксикаций. Завершает эту главу раздел, посвященный организации оказания медицинской помощи пострадавшим при возникновении очагов химических поражений, включающий, в том числе описание мероприятий первой помощи при отравлениях и технику безопасности при оказании помощи пораженным отравляющими и высокотоксичными веществами.

После резюмирующего текст пособия заключения приведен список основной и дополнительной литературы, рекомендованной студентам для более детального изучения материала. В этот список вошли наиболее значимые учебники, учебные пособия, справочники и руководства, выпущенные в последнее десятилетие. Важным разделом пособия являются также приложения, в которые вошли справочные материалы по особенностям выпуска, хранения и применения современных антидотов, а также тестовые задания и ответы на них.

Пособие написано хорошим литературным языком, легко и с интересом читается, иллюстрировано 7 рисунками и 9 таблицами. Авто-

ры пособия – профессор Гребенюк А.Н., доктор медицинских наук Н.В. Шперлинг, доценты Н.Л. Денисов и О.Ю. Стрелова, собрали под одной обложкой самый свежий материал по порядку применения антидотов при химических авариях и изложили этот материал в соответствии с принципами доказательной медицины и психолого-педагогическим требованиям к подобного рода изданиям. Рецензентами пособия выступили известные специалисты в области токсикологии и медицины чрезвычайных ситуаций – доктор биологических наук, доцент Н.В. Буркова и кандидат медицинских наук, доцент Д.А. Сидоров. Нет сомнений в том, что это пособие займет достойное место среди учебных изданий по токсикологии и поможет студентам фармацевтических вузов более детально изучить один из важнейших разделов этой науки – особенности применения антидотов при чрезвычайных ситуациях химической природы.

*Профессор кафедры Безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) доктор медицинских наук профессор В.Д. Гладких*

*Заместитель начальника отдела военной токсикологии и медицинской защиты Учебного военного центра ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) кандидат медицинских наук доцент Л.А. Кушнир*

