

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



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

№2 (149), 2018

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

В.А. Капцов, А.В. Чиркин

ОБ ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ
ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ КАК СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ
ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР)..... 2

**М.М. Поцхверия, А.К. Евсеев, А.Ю. Симонова,
Е.В. Клычникова, И.В. Горончаровская, В.А. Маткевич,
М.М. Гольдин, С.С. Петриков**

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОТЕНЦИАЛА ПЛАТИНОВОГО ЭЛЕКТРОДА ПРИ
РАЗОМКНУТОЙ ЦЕПИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И КОЭФФИЦИЕНТА
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ
ОТРАВЛЕНИЯМИ ВЕЩЕСТВАМИ ПРИЖИГАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ..... 7

**Л.П. Эрдниев, Д.В. Горбунов, Я.А. Степанов, Е.Ю. Андреева,
Л.В. Горбунова, И.В. Мокшанов**
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ
И ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ
ВОЗДЕЙСТВИИ ВЕЩЕСТВА ТИПА CS..... 13

**И.А. Минигалиева, Б.А. Кацнельсон, Л.И. Привалова,
М.П. Сутункова, В.Б. Гурвич, В.Я. Шур, Е.В. Шишкина,
И.Е. Валамина, О.Г. Makeyev, В.Г. Панов, А.Н. Вараксин,
С.В. Клинова, С.В. Соловьёва, Е.Ю. Мещерякова**
СРАВНИТЕЛЬНАЯ И КОМБИНИРОВАННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ
НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ АЛЮМИНИЯ, ТИТАНА И КРЕМНИЯ И ЕЁ
ОСЛАБЛЕНИЕ КОМПЛЕКСОМ БИОПРОТЕКТОРОВ..... 18

А.Г. Кирова, М.М. Крыласова, Н.И. Шеина
ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ОРГАНИЗМЫ:
БЕЗОПАСНОСТЬ И ОБЩЕСТВЕННОЕ МНЕНИЕ 28

□ **Экологическая токсикология**

В.И. Ипатова, А.Г. Дмитриева, О.Ф. Филенко, Т.В. Дрозденко
О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ
ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ SCENEDESMUS QUADRICAUDA
(TURP.) BREV. В ПРИСУТСТВИИ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ
МЕТАЛЛОВ 34

А.Г. Тригуб, В.И. Ипатова
ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТА Ag/AgCl НА КУЛЬТУРЫ
МИКРОВОДОРОСЛЕЙ SCENEDESMUS QUADRICAUDA
И PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM..... 44

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

**Н.И. Шеина, В.А. Паршин, Л.И. Мялина, Л.П. Сазонова,
В.В. Колесникова**
ПРЕПАРАТ «ФИТАЗА» 51

Д.В. Герасимов
ОЦЕНКА ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ И ДИНАМИКИ ПРИБАВКИ
ВЕСА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОДНОКРАТНОМ
ПОСТУПЛЕНИИ СМЕШАННОГО ОКСИДА ОБЕДНЕННОГО УРАНА С
ВОДОЙ..... 53

□ **Съезды, конференции, совещания**..... 56

□ **Некролог**

ПАМЯТИ ВАЛЕНТИНА БОРИСОВИЧА ПРОЗОРОВСКОГО 58

**БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО
ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**
Х.Х. Хамидулина

РЕГУЛИРОВАНИЕ ОБРАЩЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ
ОРГАНАМИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА 61

V.A. Kaptsov, A.V. Chirkin

ABOUT EFFICIENCY OF INDIVIDUAL PROTECTION EQUIPMENT OF
RESPIRATORY ORGANS AS PROPHYLACTICS
OF DISEASES (REVIEW)..... 2

**M.M. Potshveriya, A.K. Evseev, A.Yu. Simonova,
E.V. Klychnikova, I.V. Goroncharovskaya, V.A. Matkevich,
M.M. Goldin, S.S. Petrikov**

INTERRELATION OF PLATINUM ELECTRODE OPEN
CIRCUIT POTENTIAL IN THE BLOOD PLASMA AND
OXIDATIVE STRESS COEFFICIENT IN PATIENTS WITH ACUTE
POISONING BY CAUTERANT AGENTS..... 7

**L.P. Erdniev, D.V. Gorbunov, Y.A. Stepanov, E.Y. Andreeva, L.V.
Gorbunova, I.V. Mokshanov**
DYNAMICS OF INDEXES OF EXTERNAL BREATH AND BEHAVIOR
ACTIVITIES OF WHITE RATS WHEN EXPOSED TO A SUBSTANCE OF
THE CS TYPE 13

**I.A. Minigalieva, B.A. Katsnelson, L.I. Privalova, M.P. Sutunkova,
V.B. Gurchich, V.Y. Shur, E.V. Shishkina, I.E. Valamina,
O.G. Makeyev, V.G. Panov, A.N. Varaksin, S.V. Klinova,
S.V. Solovyeva, E.Y. Meshtcheryakova**
COMPARATIVE AND COMBINED TOXICITY OF ALUMINIUM, TITANIUM
AND SILICON OXIDES NANOPARTICLES AND ITS ALLEVIATION WITH
THE COMPLEX OF BIOPROTECTORS 18

A.G. Kirova, M.M. Krylasova, N.I. Sheina
GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS: SAFETY AND PUBLIC
OPINION..... 28

□ **Ecotoxicology**

V.I. Ipatova, A.G. Dmitrieva, O.F. Filenko, T.V. Drozdenko
ON SOME PECULIARITIES OF THE PHYSIOLOGICAL
HETEROGENEITY OF THE POPULATION OF SCENEDESMUS
QUADRICAUDA (TURP.) BREV. IN THE PRESENCE OF LOW
CONCENTRATIONS OF METALS..... 34

A.G. Trigub, V.I. Ipatova
INFLUENCE OF NANOCOMPOSITE Ag/AgCl ON THE CULTURE
OF MICROALGAE SCENEDESMUS QUADRICAUDA AND
PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM 44

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

**N.I. Sheina, V.A. Parshin, L.I. Mjalina, L.P. Sazonova,
V.V. Kolesnikova**
PREPARATION «PHYTASE»..... 53

D.V. Gerasimov
ASSESSMENT OF EATING BEHAVIOR AND DYNAMIC
OF WEIGHT GAIN OF EXPERIMENTAL ANIMALS WITH A SINGLE
RECEIPT OF THE MIXED OXIDE OF DEPLETED URANIUM
WITH WATER 53

□ **Congresses, conferences, meetings** 56

□ **Obituary**

IN MEMORY OF VALENTIN BORISOVICH PROZOROVSKY 58

**BULLETIN OF THE RUSSIAN REGISTER OF POTENTIALLY
HAZARDOUS CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES**
Kh.Kh. Khamidulina

REGULATION OF CHEMICAL PRODUCTS BY BODIES OF
ROSPOTREBNADZOR..... 61

УДК 613.6

ОБ ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ КАК СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР)

В.А. Капцов¹, А.В. Чиркин²

¹ФГУП Всероссийский НИИ железнодорожной гигиены Роспотребнадзора, 125438, г. Москва, Российская Федерация
²ООО Бета-про, 111024, г. Москва, Российская Федерация

Представлен обзор публикаций, в которых оценивалась эффективность средств индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД) как средства снижения заболеваемости (профессиональной; и заболеваемости с временной утратой трудоспособности ЗВУТ); и показатели степени очистки вдыхаемого воздуха. Выявлено, что с большой степенью вероятности, систематические исследования в этой области не проводились; и что в ряде случаев эффективность завышалась некорректным обоснованием.

Ключевые слова: СИЗОД, эффективность, коэффициент защиты, профессиональные заболевания.

Введение. Увеличение рабочих мест с вредными условиями труда сделало применение средств индивидуальной защиты (СИЗ) важным способом профилактики профзаболеваний. Но найти информацию о том, в какой степени применение СИЗОД позволяет достичь этой цели, трудно; а отличия в выборе и организации их применения в РФ и на западе не позволяет использовать западные данные. При подготовке обзора [1], профессор В.Ф. Кириллов безуспешно пытался найти эту информацию среди новых статей, но мы продолжили начатый им поиск, и посвящаем эту работу его светлой памяти.

При применении СИЗОД, для защиты рабочего необходимо (1) использовать СИЗОД своевременно, (2) они должны обеспечить его пригодным для дыхания воздухом, и (3) отделить органы дыхания от загрязнённой атмосферы. Выполнению (1) мешает негативное влияние СИЗОД на рабочих; выполнению (2) субъективность реакции органов чувств, мешающая вовремя менять противогазные фильтры (при появлении запаха); (3) а неаккуратное надевание и смещение маски во время работы создаёт главный путь попадания загрязнений в лёгкие за счёт зазоров между ней и лицом. Во время работы зазоры появляются чаще, и они значительно больше, чем при испытаниях в лабораториях. Поэтому на западе работодатели обязаны: применять СИЗОД лишь при недоступности иных способов; учитывать большую эффективность при подаче воздуха в маску (из-за меньшего разрежения при вдохе) и различия между реаль-

ной и лабораторной эффективностью; вовремя менять противогазные фильтры, подбирать маски к лицам.

Материалы и методы исследования. Мы искали статьи, в которых бы имелась информация о: (1) заболеваемости рабочих до и после начала использования СИЗОД; (2) типе/модели СИЗОД; (3) загрязнённости воздуха (химический состав и концентрации; или превышения ПДК); и (4) загрязнённости воздуха до и после начала использования СИЗОД была схожа.

На 1 этапе были изучены работы профпатологов и специалистов по охране труда, на 2 этапе – книги ведущих специалистов по СИЗОД. Это снизило риск пропуска важных статей и возможного влияния конфликта интересов: разработчики зачастую склонны переоценивать последствия эксплуатации своей продукции.

Результаты и обсуждение. На 1 этапе было просмотрено ~28 изданий (табл. 1), в том числе журналы – Альманах клинической медицины 1998-2016; Анализ риска здоровью, 2013-2016; Безопасность в техносфере 2006-2016; Безопасность жизнедеятельности 2002-2016; Безопасность и охрана труда 2006-2016; Борьба с силикозом 1953-1986; Вектор науки ТГУ 2009-2015; Вестник науки Сибири 2011-2016; Здравоохранение РФ 1957-2016; Здравоохранение Казахстана (1945-95; 2012-2016); Горный информационно-аналитический бюллетень 1992-2016; Медико-технические проблемы индивидуальной защиты человека, 9 выпусков (1969-1982); Научные работы институтов охраны тру-

Капцов Валерий Александрович (Kaptsov Valery Aleksandrovich), доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, ФГУП Всероссийский НИИ железнодорожной гигиены Роспотребнадзора, 125438, г. Москва, kaptsova39@mail.ru

Чиркин Александр Вячеславович (Chirkin Alexander Vyacheslavovich), ООО Бета-про, 111024, г. Москва, alexandr.chir@yandex.ru

да ВЦСПС 1960-1975; Профессиональные болезни пылевой этиологии 1967-1991; Радиационная гигиена 2008-2016; Современные проблемы науки и образования 2005-2016; Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования 2011-2015; Технологии гражданской безопасности 2003-2016; Фундаментальные исследования 2004-2016; Химическая промышленность сегодня 2000-2016; Экология человека 1994–2016; 362 сборника статей. В 6 журналах (2001-2016) подходящие статьи не нашли.

Поиск выявил 842 статьи. Но заболеваемость обычно снижалась при улучшении условий труда и использовании СИЗОД; и выделить вклад только СИЗОД было невозможно. Отмечено, что институты гигиены труда мало изучают СИЗОД ([2] с. 13); и что статьи о влиянии СИЗОД на заболеваемость «встречаются ... крайне редко» (с. 26 [3]). Похоже, в СССР и РФ, эти проблемы систематично не изучали.

1. Оценка эффективности СИЗОД – по 1 этапу

Статьи преобразовали: если в статье были оценки СИЗОД разных типов, её делили на 2-3 статьи о СИЗОД 1 вида; получили 965 статей. Данные и об эффективности и о заболеваемости были в 47 (полные; и в 48 менее полные данные).

В 1 случае были устранены причины профзаболевания – при подаче кондиционированно-

го воздуха в маску при большой загрязнённости; и ограничении носки полумасок низкой загрязнённостью [4]. Эта статья, и ещё 8, когда *декларировалась* высокая эффективность (на основе устранения *острых* отравлений; некоторого снижения заболеваемости; мнение авторов – при отсутствии данных о заболеваемости, и/или её сохранении), получены на фоне 86, показавших низкую эффективность. При сравнении статей о СИЗОД с и без подачи воздуха, среди последних доля статей с высокой эффективностью была в 5,6 раз меньше (50% и 8,9%).

Обнаружилась тенденция: в статьях без данных о заболеваемости, доля статей с высокой эффективностью СИЗОД была в 4,9 раз выше, чем в статьях с данными о заболеваемости (46,5% и 9,5%). Это может объяснить, почему во многих публикациях декларируется высокая эффективность (в них нет информации о заболеваемости).

«Рост» эффективности, при игнорировании авторами здоровья рабочих, может объясняться влиянием публикаций, десятилетиями декларировавших высокую эффективность (разобраны ниже). Схожая тенденция есть и на западе. Применение СИЗОД каждого вида ограничено ожидаемым коэффициентом защиты (КЗ) (Assigned PF, APF), который должен быть больше кратности превышения ПДК. В США их разработали на основе замеров

Таблица

Статьи о применении СИЗОД

Издание	Период	Все статьи ²	Число статей с данными о ¹	
			Заболеваемости ³	Эффективности ⁴
Медицина труда и промышленная экология	1957-2016	118	20	13 (из 15)
		136	(42)	18 (из 20)
Гигиена и санитария	1936-2016	146	17	12 (из 13)
		159	(47)	25 (из 29)
Медицинская радиология	1956-2016	13	5	3 (из 3)
		16	(6)	4 (из 4)
Безопасность труда в промышленности	1957-2016	250	0	-
		299	(14)	9 (из 9)
Другие периодические издания	1945-2016	98	9	3 (из 3)
		115	(18)	4 (из 5)
362 сборника статей и книг (труды >20 НИИ)	1957-2016	217	23	12 (из 13)
		240	(52)	26 (из 28)

1 – Те статьи, где были данные о разных СИЗОД, преобразовали: из 1 статьи делали 2 или 3 однородных, с данными об одном виде СИЗОД.

2 – Вверху – до, а внизу – после преобразования (пункт 1).

3 – Статьи с численными показателями заболеваемости или здоровья; ниже (в скобках) к ним добавлены статьи с менее полными данными (выделено курсивом).

4 – Статьи с оценкой здоровья, где эффективность СИЗОД как средства снижения заболеваемости (или загрязнённости вдыхаемого воздуха), была низкой или недостаточной (мнение авторов; данные в статье: превышение ПДК во вдыхаемом воздухе; факт ингаляционного поступления загрязнений). Вверху – статьи с более полной оценкой здоровья, ниже добавлены статьи с менее полными данными (п. 3). В скобках – число статей с данными об эффективности и заболеваемости одновременно.

КЗ на рабочих местах; а в других странах проводили в основном лабораторные замеры. В США АРФ наименьшие: у полных масок 50; у полумасок 10 (в ФРГ 400 и 30 соответственно) [5,6].

В ~40 статьях описаны замеры концентрации загрязнений в маске, и/или отношения концентраций снаружи и в маске (КЗ). 10 статей опубликованы до 1961 г. (те модели уже не производят). Замеры КЗ помогают оценить эффективность СИЗОД как устройства, но не дают сведений о здоровье рабочих. Результаты замеров на рабочих местах использовали на западе для профилактики выдачи рабочим неэффективных СИЗОД [1,7]. Замеры проводили редко и бессистемно (на западе в 1972-2015 гг. ~70 исследований); нет данных для оценки качества замеров: возможны значительные ошибки [8]. В тех 18 статьях, где эффективность оценивалась как высокая, данных о заболеваемости не было ни в одной.

В целом, низкая эффективность СИЗОД как средства профилактики заболеваний, может объясняться выбором СИЗОД, не соответствующих условиям труда, несоответствием маски по форме и/или размеру лица, запоздалой заменой противогазных фильтров, и не использованием в загрязнённой атмосфере. Хотя условия применения СИЗОД в США и СССР были различны, оценки специалистов схожи: (акад. А.А. Летавет [9] с. 5) «Хорошо известно, сколь малоэффективно ... накладывать на плохо спроектированную технологию и аппаратное оформление «гигиенические заплатки» в виде ... ношения рабочими противогазов».

(М. Никас, с. 426 «Выводы» [10]) – о рабочих, не получающих требуемую защиту из-за нестабильности КЗ СИЗОД: «К сожалению, единственный способ уменьшить долю рабочих, подвергающихся чрезмерному воздействию, до нуля – это обеспечить, чтобы C_0 (концентрация загрязнений в зоне дыхания) была ниже 1 ПДК».

2. Оценка эффективности – по 2 этапу

На 2 этапе были изучены 10 книг ведущих специалистов по СИЗОД; заболеваемость затронута в двух. Использование ссылок на статьи в западных изданиях в [3] некорректно из-за значительных отличий в выборе и применении СИЗОД в РФ и на западе. Также в [3,11] сослались на статьи, найденные на 1 этапе.

2.1. Совпадение источников: пневмокониозы ([3] с. 28, источник 1.1)

Оригинал (с. 90 [12]): «... распространённость пневмокониоза ... снизилась соответственно в 2,5, 2,7, 4 и 7 раз ... Положительная динамика заболеваемости пневмокониозом связана с внедрением комплекса технических, санитарно-гигиенических и медико-биологических мероприятий по профилактике заболеваний горнорабочих. Определённый эффект даёт использование про-

тивовыплевых респираторов». (В 1963-1974гг. запылённость в забоях снизилась в 3,4 раза [13] с. 221).

Цитата (с. 28 [3]): «... на протяжении 20 лет распространённость пневмокониозов снизилась в 2,5-7 раз. По мнению авторов работы ... внедрение отечественных респираторов с коэффициентом защиты 100 ... привело к выравниванию пылевых нагрузок у горнорабочих ...». В [12] нет данных о вкладе продолжения носки (!) СИЗОД; нет КЗ вообще; и сказано, что устранить пневмокониозы – не удалось.

2.2. Совпадение источников: Усть-Каменогорский комбинат (Казахстан)

Из-за роста заболеваемости, были улучшены условия труда, и внедрены СИЗОД. Улучшение условий снизило заболеваемость в 5 раз в одном цехе; и в 20 раз в другом – вместе с внедрением респиратора [14]: «Высокая эффективность задержания свинецсодержащих соединений тканью респиратора «Лепесток» наряду с проводимыми техническими и технологическими мероприятиями, обусловили резкое сокращение случаев профессиональных заболеваний ... В 1959 г. после введения обязательного ношения респиратора «Лепесток» профессиональная заболеваемость в плавильном цехе не регистрировалась совсем, а в агломерационном цехе по сравнению с 1958 г. была снижена в 20 раз. В то же время в плавильном цехе, где в начале 1959 г. ещё не было введено обязательное ношение респиратора «Лепесток», профессиональная заболеваемость была снижена по сравнению с 1958 г. только в 5 раз».

В последующих 12 статьях (1964-1990 гг.) отмечали: превышение ПДК, позитивное влияние улучшения условий труда на частоту и тяжесть случаев сатурнизма и неспецифической заболеваемости. Свинцовые интоксикации порой возникали при стаже 2-3 года, и за 28 лет добиться своевременной носки «Лепестков» в загрязнённой атмосфере не удалось. В половине статей «Лепесток» даже не упоминали.

Цитата ([11] с. 239): «... после введения обязательного ношения респираторов «Лепесток» профессиональная заболеваемость в плавильном цехе не зарегистрирована совсем, а в агломерационном снизилась в 20 раз. ... ведущая роль респиратора «Лепесток» бесспорна...». Искажен смысл статьи [14], остальные – проигнорированы.

2.3. Биомониторинг воздействия радиоактивной пыли

В (с. 246-249 [11]) описано снижение поступления плутония в организм за счёт «Лепестка». Место сбора данных, текучесть кадров и загрязнённость воздуха не указаны, а расчёты проведены для неизменной загрязнённости воздуха в течение > 5 лет. При вычислении степени очистки вдыхаемого воздуха за 6 лет, в 2 года (1957 и 1959, таблица 8.1) получились отрицательные КЗ. Взяв перо-

ральное поступление 2% (от ингаляционного – без СИЗОД), получили средний КЗ = 100. (Коррекция табл. 8.1 на 2% перорального поступления, даст отрицательное ингаляционное – за 3 года из 6).

В начале атомного проекта загрязнённость порой достигала 225 тыс. ПДК (с. 235 [15]); затем её снизили, и с 1955-1958 гг. ([16] с. 36) заболеваемость резко снизилась. Это не согласуется с постоянством концентрации; отсутствием данных о ней и месте сбора данных. Так, среди работавших в 1970-е и позже, есть лица «для которых накопленная доза уже сейчас превышает установленный предел, что говорит о пренебрежении к правилам ношения индивидуальных средств защиты органов дыхания» («Лепесток»)» [17]. Загрязнённость внутренней и внешней поверхности «Лепестка» отличалась в 10÷42 раза (с. 266 [15]). Снижение концентрации плутония в моче [11] в 9 раз, схоже с АРФ полумасок (10 [5]); но не с КЗ ≈ 100 [11] и 200 [18].

2.4. Анализ других результатов 2 этапа

Хотя КЗ не являются показателями здоровья рабочих, эффективность СИЗОД обосновывали замерами КЗ на рабочих местах и в лабораториях (на людях, манекенах, и даже в зажиме [18]). Западные исследования показали, что во время работы КЗ регистрировались на порядки ниже лабораторных, и поэтому последние неприменимы для оценки КЗ на рабочих местах [1,19,20]. Но и лабораторные замеры показывали низкие КЗ полумасок (до 5,5÷5,7 [21]); и побудили ограничить их носку ≤10 ПДК (с. 80 [22]).

3. Результаты других исследований, выявленные в литературе

Использование СИЗОД на Чернобыльской АЭС получило разные оценки. При заявленном КЗ «Лепестка» 200, он мог быть: 2÷8 (данные ВНИИ гражданской обороны, с. 11-12 [23]); 5÷10 (Институт биофизики [24]); 3,3÷10 (Комплексная экспедиция при ИАЭ им. И.В. Курчатова (с. 22 [25])). Независимые лабораторные замеры показали, что КЗ ≥200 лишь в 20% случаев; у 4 человек КЗ ≤ 5; минимальный 1,5 [26]. Разработчики СИЗОД объяснили это так: «... в 20 % заданий фактор пригодности (лабораторный КЗ – прим.) был более 200, т.е. проскок не превышал 0,5 %. Следовательно, «Лепесток-200» полностью соответствовал заявленным критериям защиты ...»; а остальное авторы документа – проигнорировали [25].

При носке полумасок содержание метаболита толуилендиизоцианата снизилось в 10 раз (с.

45 [27]), что согласуется с ожидаемым КЗ (Assigned PF [5]). Исследования полумасок в шахтах показали, что запылённость воздуха в маске обычно выше ПДК [28]. Это согласуется с результатами 8 статей (1963-2012 гг.), выявленных на 1 этапе: гистологический анализ тканей лёгких у всех шахтёров (суммарно > 110), считавшихся здоровыми при жизни, показал хотя бы начальные стадии пневмокониоза. Замеры излучения лёгких 326 шахтёров урановой шахты показали КЗ = 1,2÷2,0 [29].

Подавляющее большинство статей показало недостаточную эффективность СИЗОД. Это соответствует западным данным, но не согласуется с мнением части специалистов по СИЗОД. Мы полагаем, что их точка зрения обоснована некорректно.

Неэффективность СИЗОД отчасти вызвана их не применением в загрязнённой атмосфере. Эта проблема есть и на западе, и она не решена; но в РФ есть ещё одна причина её проявления. Многолетняя выдача СИЗОД, не обеспечивающих требуемую защиту даже при своевременном применении; выдача масок, не соответствующих лицам по форме и/или размеру; запоздалая замена противогазных фильтров – породили убеждение в: бесполезности СИЗОД вообще; и что их выдают не для защиты здоровья, а по требованию закона, «для галочки». Так думает и часть руководителей, видевших результат носки «эффективных» СИЗОД. Добиваться своевременного использования моделей, которые не способны защитить – не реально; бессмысленно и неэтично.

Выводы:

1. Вероятно, систематическое изучение влияния СИЗОД на заболеваемость не было приоритетной целью.

2. В большинстве случаев СИЗОД не устраняют причины хронических профзаболеваний.

3. Декларированная высокая эффективность СИЗОД зачастую не коррелирует с данными о заболеваемости, не соответствует современному уровню мировой науки; и обоснована некорректно.

4. Требования к сертификации СИЗОД, их выбору и применению, не исключают выдачу недостаточно эффективных моделей, де-мотивируя рабочих их использовать.

5. Во избежание возможного конфликта интересов, разработка требований к СИЗОД и к их применению должна проводиться при активном участии профпатологов и профсоюзов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кириллов В. Ф. и др. Обзор результатов производственных испытаний средств индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД). Токсикол. вестник. 2014 (6): 44-49.
2. Цуцков М. Е., ред. Пути совершенствования средств индивидуальной защиты работающих на производстве. Москва: ВЦНИИ охраны труда ВЦСПС, 1973.
3. Басманов П. И., Каминский С. Л., Коробейникова А. В., Трубицина М. Е. Средства индивидуальной защиты

органов дыхания. СПб: ГИПП «Искусство России»; 2002.

4. Современные проблемы гигиены труда и профпатологии в машиностроительной и химической промышленности. Тезисы конференции 24-26 мая 1983 г. Харьков; 1983.

5. OSHA standard 29 CFR 1910.134 «Respiratory Protection». Available at: http://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=STANDARDS&p_id=12716
6. Europäische Norm DIN EN 529:20 Atemschutzgeräte – Empfehlungen für Auswahl,

Einsatz, Pflege und Instandhaltung – Leitfaden. Brüssel: CEN, 2006.

7. Кириллов В. Ф. и др. О средствах индивидуальной защиты органов дыхания работающих. Медицина труда и промышленная экология. 2013 (4): 25-31.
8. Капцов В. А. и др. Об оценке эффективности средств индивидуальной защиты органов дыхания. Безопасность в техносфере, 2015 (5): 7-14.
9. Летавет А. А. Институт гигиены труда и профессиональных заболеваний в составе АМН СССР. Гигиена труда и профессиональные заболевания. 1973 (9): 1-7.
10. M. Nicas & R. Spear. A Probability Model for Assessing Exposure among Respirator Wearers: Part II – Overexposure to Chronic versus Acute Toxicants, American Industrial Hygiene Association Journal, 53(7): 419-426, 1992.
11. Петрянов И. В., Кошечев В. С., Басманов П. И., Борисов Н. Б., Гольдштейн Д. С., Шатский С. Н., и др. «Лепесток». Лёгкие респираторы, 2 изд. Москва: Наука; 2015.
12. Зингер Ф.Х, Сорокин Е. С., Мухина К. Ш. Распространённость

- и некоторые актуальные вопросы повышения эффективности профилактики пневмоконозиса в угольной промышленности. Гигиена и Санитария, 1984(5): 89-91.
13. Научно-технический прогресс и оздоровление условий труда в угольной и металлургической промышленности. Тезисы докладов конференции. Донецк, 1975.
14. Пахотина Н. С. и др. О возможности применения респиратора ШБ-1 «Лепесток» в предприятиях цветной металлургии. Здравоохранение Казахстана. 1962 (2): 61-63.
15. Ильин Л. А. ред. Плутоний. Радиационная безопасность. Москва: ИздАТ, 2005.
16. Ильин Л. А. ред. Избранные материалы «Бюллетеня радиационной медицины», том Москва: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2016.
17. Антипин Е. Б., Поцяпун Н. П., Хомяков В. В. О совершенствовании индивидуального дозиметрического контроля внутреннего облучения персонала. Аппаратура и новости радиационных измерений, 2011 (2): 42-

18. ГОСТ 12.4.028-Респираторы ШБ-1 «Лепесток». Москва: Стандартинформ, 2009.
19. Derivation of assigned protection factors. In: BS 4275:1997 Guide to implementing an effective respiratory protective device programme. London: BSI, 1997: 50-52.
20. Nelson T.J. The Assigned Protection Factor According to ANSI. American Industrial Hygiene Association Journal, 57(8): 735-740, 1996.
21. Голынько В.И., Наумов М. М., Чеберячко С. И., Радчук Д. И. Дослідження захисної ефективності вітчизняних одноразових протипилових респираторів за європейськими стандартами. Металургическая и горнорудная промышленность, 2011 (5): 118-122.
22. Кошечев В.Е, Тарасов В. И. Просто о простом в применении средств защиты дыхания. Пермь: Агентство «Стиль-МГ»; 2007.
23. Кошечев В. С. ред. Экстремальная физиология, гигиена и средства индивидуальной защиты человека. Тезисы докладов конференции 25-27 сентября 1990 г. Москва: ИБФ МЗ СССР, 1990.
24. Попов В. И., Кочетков О. А.,

- Молоканов А. А., Абрамов Ю. В., Лапа Л. Г. Формирование доз внутреннего облучения для персонала Чернобыльской АЭС и командированных в 1986-1987 гг. Медицинская радиология, 1991 (2): 33-41.
25. Огородников Б. И., Пазухин Э. М. Радиоактивные аэрозоли объекта «Укрытие» (обзор). Часть Средства улавливания и анализа аэрозолей. Радиоактивные аэрозоли в легких. Чернобыль: НАН Украины, 2006.
26. M.D. Hoover et al. Independent Evaluation of The Lepestok Filtering Facepiece Respirator (PNNL-13581). Albuquerque, NM: Lovelace Respiratory Research Institute, 2001.
27. Миронов Л. А. Применение средств индивидуальной защиты. Н. Новгород: БИОта, 2009.
28. Чеберячко С.И, Радчук Д. И. Нерешённые проблемы защиты шахтёров от пыли. Безопасность и охрана труда (Н. Новгород), 2016 (4): 75-
29. Малашенко А. В. Многофакторный генез профессиональной лёгочной патологии у горнорабочих урановых шахт. Медицинская радиология, 2010 (2): 5-12.

REFERENCES:

1. V.A. Kirillov, A.S. Filin, A.V. Chirkin. Overview of industrial testing outcome of respiratory organs personal protection equipment. Toksikol. vestn. 2014 (6): 44-49 (in Russian).
2. Tsutskov M.E., ed. Ways to improve PPE for workers. Moscow: All-Union Central Research Institute of Occupational Safety and Health of VtsSPS, 1973 (in Russian).
3. Basmanov P.I., Kaminskiy S.L., Korobeynikova A.V., Trubitsina M.E. Respiratory Protective Devices. SPB: GiPP «Iskusstvo Rossii»; 2002 (in Russian).
4. Modern problems of occupational hygiene and pathology in the engineering and chemical industries. Abstracts of the conference (May 24-26, 1983). Kharkov; 1983 (in Russian).
5. OSHA standard 29 CFR 1910.134 «Respiratory Protection». Available at: http://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=STANDARDS&p_id=12716
6. Europäische Norm DIN EN 529:20 Atemschutzgeräte – Empfehlungen für Auswahl, Einsatz, Pflege und Instandhaltung – Leitfaden. Brüssel: CEN, 2006 (in German).
7. Kirillov V.F. et al. The respiratory protective devices. Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya. 2013 (4): 25-31 (in Russian).
8. Kaptsov V.A. et al. On Evaluation of

- Effectiveness of Respiratory Protective Devices. Bezopasnost' v tekhnosfere, 2015 (5): 7-14 (in Russian).
9. Letavet A.A. Research Institute of industrial hygiene and occupational diseases of AMS USSR. Gigiena truda i professional'nye zabolevaniya. 1973 (9): 1-7 (in Russian).
10. M. Nicas & R. Spear. A Probability Model for Assessing Exposure among Respirator Wearers: Part II – Overexposure to Chronic versus Acute Toxicants, American Industrial Hygiene Association Journal, 53(7): 419-426, 1992.
11. Petryanov I.V., Koshcheev V.S., Basmanov P.I., Borisov N.B., Gol'dshcheyn D.S., Shatskiy S.N. et al. Filtering facepieces «Lepestok», 2 ed. Moscow: Nauka; 2015 (in Russian).
12. Zinger F.Kh, Sorokin E.S., Mikhina K.Sh. The incidence of pneumoconiosis and its prevention in the coal industry. Gigiena i Sanitariya, 1984(5): 89-91 (in Russian).
13. Scientific and technological progress and the improvement of working conditions in the coal and steel industry. Abstracts of the conference. Donetsk, 1975 (in Russian).
14. Pakhotina N.S. et al. On the possible usage of a respirator SB-1 «Lepestok» in non-ferrous metallurgy. Zdravookhranenie Kazakhstana. 1962 (2): 61-63 (in Russian).
15. Il'in L.A. ed. Plutonium. Radiation safety. Moscow: Izdat, 2005 (in Russian).

16. Il'in L.A. ed. Selected materials of the Bulletin of Radiation Medicine, vol. Moscow: FGBU SSC FMBTS im. A.I. Bumazyan FMBA of Russia, 2016 (in Russian).
17. Antipin E.B., Potsyapun N.P., Khokhryakov V.V. About improvement of Personal Monitoring System for Internal Exposure of Personnel. Apparatura i novosti radiatsionnykh izmereniy, 2011 (2): 42-49 (in Russian).
18. State Standard 12.4.028-Respirators ШБ-1 «Lepestok». Moscow: Standartinform Publ., 2007 (in Russian).
19. Derivation of assigned protection factors. In: BS 4275:1997 Guide to implementing an effective respiratory protective device programme. London: BSI, 1997: 50-52.
20. Nelson T.J. The Assigned Protection Factor According to ANSI. American Industrial Hygiene Association Journal, 57(8): 735-740, 1996.
21. Gol'in'ko V.I., Naumov M.M., Cheberiyachko S.I., Radchuk D.I. The Evaluation of the Filtering Facepieces, Approved in Accordance with European Standards. Metallurgicheskaya i gornorudnaya promyshlennost' (Dnepropetrovsk), 2011 (5): 118-121 (In Ukrainian).
22. Koshelev V.E, Tarasov V.I. Problems with use of respirators. Perm: «Stil'-MG»; 2007.
23. Koshcheev V.S. ed. Extreme physiology, hygiene and personal protective equipment.

- Abstracts of the Conference. September, 19Moscow: IBF MZ USSR, 1990 (in Russian).
24. Popov V.I., Kochetkov O.A., Molokanov A.A. et al. Doze Formation from Internal Irradiation for the Personnel of the Chernobyl Nuclear Power Station and Persons Sent on Mission in the Period of 1986-19Meditsinskaya radiologiya, 1991 (2): 33-41 (in Russian).
25. Ogorodnikov B.I., Pazukhin E.M. Radioactive aerosols of the object «Ukrytya» (a review). Part Means for sampling and analyses of aerosols. Radioactive aerosols in lungs. National Academy of Sciences of Ukraine. Chernobyl, 2006 (in Russian).
26. M.D. Hoover et al. Independent Evaluation of The Lepestok Filtering Facepiece Respirator (PNNL-13581). Albuquerque, NM: Lovelace Respiratory Research Institute, 2001.
27. Mironov L.A. The PPE usage. N. Novgorod: БИОта, 2009 (in Russian).
28. Cheberiyachko S.I., Radchuk D.I. Unresolved problems in protecting miners from dust Bezopasnost' i okhrana truda (N. Novgorod), 2016 (4): 75-77 (in Russian).
29. Malashenko A.V. Multiple-Factor Genesis of Professional Pulmonary Pathology in Uranium Miners. Meditsinskaya radiologiya, 2010 (2): 5-12 (in Russian).

V.A. Kaptsov¹, A.V. Chirkin²

ABOUT EFFICIENCY OF INDIVIDUAL PROTECTION EQUIPMENT OF RESPIRATORY ORGANS AS PROPHYLACTICS OF DISEASES (REVIEW)

¹All-Russian Research Institute of Railway Hygiene of Rospotrebnadzor, 125438, Moscow, Russian Federation

²Beta-Pro Ltd., 111024, Moscow, Russian Federation

The review of publications evaluating the effectiveness of personal respiratory protection (RPE) as means of reducing morbidity (occupational and morbidity with temporary loss of ability to work) and indicators of the degree of purification of the inhaled air is presented. It is revealed that with a high degree of probability, systematic studies in this field were not carried out and that in some cases the effectiveness was overestimated by incorrect justification.

Keywords: RPE, efficiency, protection factor, occupational diseases.

Материал поступил в редакцию 07.02.2018 г.

УДК 615.099

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОТЕНЦИАЛА ПЛАТИНОВОГО ЭЛЕКТРОДА ПРИ РАЗОМКНУТОЙ ЦЕПИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И КОЭФФИЦИЕНТА ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ ОТРАВЛЕНИЯМИ ВЕЩЕСТВАМИ ПРИЖИГАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

М.М. Поцхверия,
А.К. Евсеев,
А.Ю. Симонова,
Е.В. Клычникова,
И.В. Горончаровская,
В.А. Маткевич,
М.М. Гольдин,
С.С. Петриков

ГБУЗ «НИИ СП
им. Н.В. Склифосовского
ДЗМ», 129090, г. Москва,
Российская Федерация

Была исследована взаимосвязь величины потенциала при разомкнутой цепи (ПРЦ) платинового электрода в плазме крови, как интегрального показателя баланса окислительно-восстановительных процессов в организме, с величиной коэффициента окислительного стресса (К), отражающей баланс между процессами перекисного окисления липидов и системой антиоксидантной защиты (ПОЛ/АОС), у пациентов с острыми отравлениями веществами прижигающего действия. Величину ПРЦ платинового электрода в плазме крови измеряли с помощью оригинальной электрохимической методики. Коэффициент К определяли по отношению уровня малонового диальдегида к показателю общей антиокислительной активности сыворотки крови. Смещение величины ПРЦ платинового электрода в плазме крови в течение первых 5-7 суток в сторону более положительных значений потенциала совпадало с увеличением интенсивности процессов ПОЛ и снижением общей антиоксидантной активности сыворотки крови. Резкое смещение величины ПРЦ платинового электрода в область положительных значений (более чем на 25 мВ) у пациентов с острыми отравлениями веществами прижигающего действия совпадает с утяжелением состояния пациентов. Данные, полученные при мониторинге ПРЦ платинового электрода в плазме крови у пациентов с острыми отравлениями веществами прижигающего действия, свидетельствующие о прямой взаимосвязи ПРЦ платинового электрода и коэффициента К, позволяют сделать вывод о диагностических возможностях указанной методики для оценки состояния тяжести пациента и коррекции его лечения.

Ключевые слова: потенциал при разомкнутой цепи, окислительный стресс, электрод, плазма крови, малоновый диальдегид, общая антиоксидантная активность, острое отравление, вещества прижигающего действия.

Введение. Проблема острых отравлений химической этиологии приобретает все большую актуальность в связи с тем, что отравления занимают ведущие места в статистике заболеваемости и смертности населения России, в первую очередь трудоспособного возраста. За период 2011-2015 гг. в Российской Федерации было за-

регистрировано 838169 случаев острых отравлений химической этиологии, 17,2% из которых с летальным исходом [1].

Ведущее место в структуре этой группы заболеваний принадлежит острым отравлениям спиртосодержащей продукцией (32,0%) и лекарственными препаратами (30,5%), распростра-

Поцхверия Михаил Михайлович (Potskhveriya Mikhail Mikhaylovich), к.м.н., врач-токсиколог высшей категории, руководитель центра острых отравлений ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, potskhveriya@mail.ru

Евсеев Анатолий Константинович (Evseev Anatoliy Konstantinovich), д.х.н., старший научный сотрудник научной лаборатории клеточных и физико-химических медицинских технологий ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, anatolevseev@gmail.com

Симонова Анастасия Юрьевна (Simonova Anastasiya Yur'evna), к.м.н., врач-токсиколог, старший научный сотрудник научного отделения лечения острых отравлений ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, triro@mail.ru

Клычникова Елена Валерьевна (Klychnikova Elena Valer'evna), к.м.н., заведующая научной клинико-биохимической лабораторией экстренных методов исследования ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», klychnikovaev@mail.ru

Горончаровская Ирина Викторовна (Goroncharovskaya Irina Victorovna), к.х.н., научный сотрудник научной лаборатории клеточных и физико-химических медицинских технологий ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, goririna22@gmail.com

Маткевич Виктор Анатольевич (Matkevich Victor Anatol'evich), д.м.н., ведущий научный сотрудник научного отделения лечения острых отравлений ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, matkevich@mail.ru

Гольдин Марк Михайлович (Goldin Mark Mikhaylovich), д.х.н., профессор, ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, markgold@gmail.com

Петриков Сергей Сергеевич (Petrikov Sergey Sergeevich), доктор медицинских наук, профессор РАН, директор ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, PetrikovSS@zdrav.mos.ru

нены отравления другими химическими веществами, в том числе веществами прижигающего действия (ВПД), которые составляют 22,2%, и наркотическими веществами (13,7%) [1].

Отравления ВПД заслуживает особого внимания, поскольку эта группа отличается тяжелым течением и частым развитием осложнений, при которых летальность может достигать до 30% [2].

Клиническая картина острых отравлений ВПД включает в себя повреждения участков слизистой оболочки пищеварительного тракта и дыхательных путей различной протяженности и степени тяжести и осложняется нарушением параметров гомеостаза, в том числе кислотно-основного состояния крови [2]. Кроме того, отмечаются нарушения характера протекания процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояния антиоксидантной системы (АОС). Усиление ПОЛ в мембранах митохондрий и липосом является наиболее распространенной причиной их повреждений при острых отравлениях ВПД [2]. Указанные повреждения приводят к увеличению проницаемости мембран для ионов, следствием чего могут быть осмотические эффекты и разрывы мембран с выходом ферментов, в частности цитохрома С. Дальнейшее окисление липидов ведет к полному разрушению мембран и гибели клеток.

При дисбалансе системы ПОЛ/АОС развивается окислительный стресс, характерной особенностью которого на ранней стадии отравлений ВПД является вторичное местное деструктивное и резорбтивное действие. В результате действия ВПД происходит активация процессов свободнорадикального окисления, что приводит к накоплению токсических веществ, которые относятся к эндотоксинам, их обезвреживание ограничено детоксикационным резервом организма, в том числе и активностью АОС [3]. Действительно, как показано в работе [4], коэффициент окислительного стресса (К) при отравлениях ВПД возрастает по сравнению с нормой ($1,12 \pm 0,10$) до величин от $3,61 \pm 0,68$ до $10,55 \pm 1,83$ в зависимости от тяжести. Для сравнения, коэффициент окислительного стресса для тяжелых форм острых отравлений психофармакологическими препаратами составляет $5,85 \pm 0,65$, то есть в два раза меньше величины коэффициента К при тяжелых отравлениях ВПД.

С электрохимической точки зрения интегральным показателем баланса окислительно-восстановительной системы организма является величина потенциала при разомкнутой цепи (ПРЦ) платинового электрода в биологической среде [5].

Ранее нами была показана возможность диагностики и прогнозирования развития ослож-

нений у пациентов с нейротравмой и в раннем послеоперационном периоде после трансплантации органов с помощью мониторинга ПРЦ в плазме крови [6,7].

Цель работы – установить, имеется ли взаимосвязь коэффициента окислительного стресса с величиной потенциала при разомкнутой цепи платинового электрода в плазме крови при острых отравлениях веществами прижигающего действия.

Материалы и методы исследования. Было обследовано 30 пациентов (25 мужчин и 5 женщин) с острыми отравлениями веществами прижигающего действия в возрасте от 17 до 85 лет, поступивших на лечение в отделение токсикологической реанимации ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ».

Цельную кровь получали с помощью вакуумной системы для забора крови; использовали пробирки Vacutainer® LH 102 I.U. и Vacutainer® SST™ II Advance (BD, Великобритания). Объем образцов крови для исследования составлял 5 мл. Плазму и сыворотку крови получали центрифугированием цельной крови на центрифуге CR 3.12 (Jouan, Франция) при 1500g в течение 15 минут. Всего было проведено 78 исследований.

Измерение ПРЦ в плазме крови проводили на платиновом электроде площадью $3,3 \cdot 10^{-2}$ см², хлоридсеребряный электрод (насыщ. KCl) использовали в качестве электрода сравнения. Потенциостат IPC-Compact (ЗАО «Кронас», Россия) использовали для измерения величины ПРЦ платинового электрода и записи зависимости изменения ПРЦ платинового электрода от времени. Перед каждым измерением платиновый электрод подвергался предварительной обработке по оригинальной методике [8].

Для оценки выраженности окислительного стресса определяли продукты ПОЛ и состояние антиоксидантной системы в сыворотке крови. Содержание продуктов ПОЛ изучали по уровню малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови, который определяли по методу В.Б. Гаврилова [9]. Состояние антиоксидантной системы оценивали по показателю общей антиокислительной активности (ОАА) сыворотки крови, который измеряли спектрофотометрическим методом на биохимическом анализаторе Olympus AU2700 (Beckman Coulter, США) с использованием набора реактивов TAS kit (Randox, Великобритания). Коэффициент К рассчитывали как отношение уровня МДА в сыворотке крови к показателю ОАА сыворотки крови.

Экспериментальные данные были статистически обработаны с расчетом коэффициента корреляции Пирсона с использованием про-

граммного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft). Средние величины ПРЦ в плазме крови и коэффициента К представлены в виде $M \pm m$.

Результаты и обсуждение. При мониторинге величин ПРЦ платинового электрода в плазме крови пациентов с острыми отравлениями ВПД было обнаружено, что с первых суток наблюдалось смещение потенциала в область менее отрицательных значений и выход за рамки диапазона, характерного для практически здоровых людей ($-60 \div -20$ мВ [10]). На 5-7 сутки наблюдалось смещение величины ПРЦ в обратном направлении в область более отрицательных значений потенциала (рис. 1).

Изменение значения коэффициента К у пациентов имело схожую картину (рис. 2). Увеличению коэффициента К в первые сутки соответствовало увеличение уровня МДА в сыворотке крови и снижение показателя ОАА сыворотки крови, в то же время после 5-7 суток наблюдалось увеличение показателя ОАА сыворотки крови при практически неизменном уровне МДА.

При статистической обработке данных был рассчитан линейный коэффициент корреляции Пирсона между величиной ПРЦ платинового электрода и значением коэффициента К, который составил 0,61, что соответствует заметной тесноте корреляционной связи. Данная корреляционная связь является статистически значимой ($p < 0,01$).

Таким образом, при острых отравлениях ВПД величины ПРЦ платинового электрода в плазме крови отражают состояние баланса ПОЛ/АОС, выражающегося в смещении величины ПРЦ платинового электрода в плазме крови в сторону менее отрицательных значений при усилении ПОЛ на фоне депрессии антиоксидантной системы, и обратном смещении потенциала в сторону более отрицательных значений по мере нормализации антиоксидантной системы.

Кроме того, в 30% случаев у обследованных пациентов в первые сутки были зафиксированы резкие сдвиги величины ПРЦ платинового электрода в плазме крови (рис. 3-5). В среднем величина смещения ПРЦ платинового электрода составляла порядка 22 ± 16 мВ, в ряде случаев достигая экстремально высоких значений, например, у пациента А. сдвиг величины ПРЦ составил 63 мВ (рис. 5).

Следует подчеркнуть, что резкое смещение величин потенциала в область менее отрица-

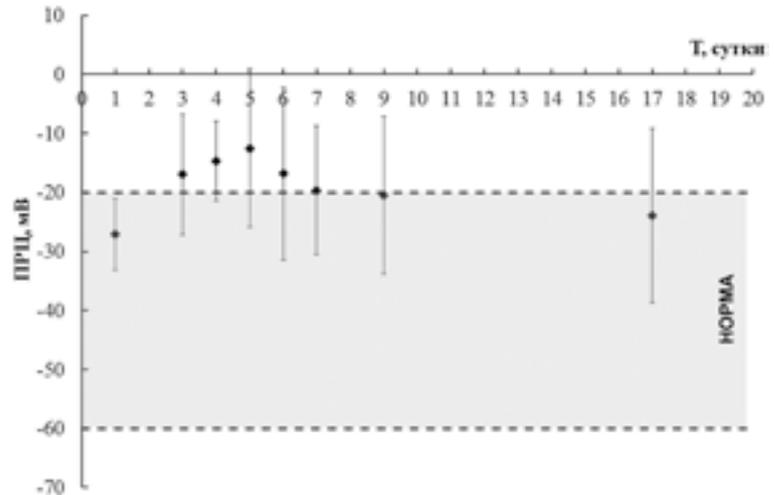


Рис. 1. Средние значения ПРЦ платинового электрода в плазме крови у пациентов с острыми отравлениями ВПД. Область между пунктирными линиями – величины ПРЦ платинового электрода в плазме крови, характерные для практически здоровых людей

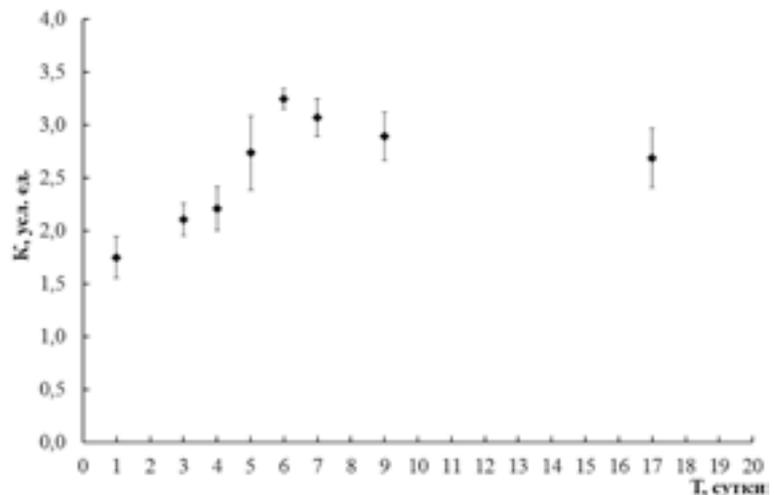


Рис. 2. Средние значения коэффициента К у пациентов с острыми отравлениями ВПД

тельных значений и выход за рамки диапазона потенциалов, характерных для практически здоровых людей, свидетельствует о развитии осложнений [6,7,10], что позволяет использовать изменение величины ПРЦ платинового электрода в качестве диагностического и прогностического критерия состояния пациента и коррекции его лечения. Так, ранее нами было установлено, что смещение величины ПРЦ платинового электрода в плазме крови более чем на 25 мВ за сутки или несколько суток у пациентов в посттрансплантационном периоде свидетельствует о возникновении осложнений, в том числе высокой вероятности развития криза отторжения трансплантата [7].

У обследованных пациентов с острыми отравлениями ВПД в 12 случаях был зафиксирован выход величин ПРЦ платинового электрода в плазме крови за границы диапазона,

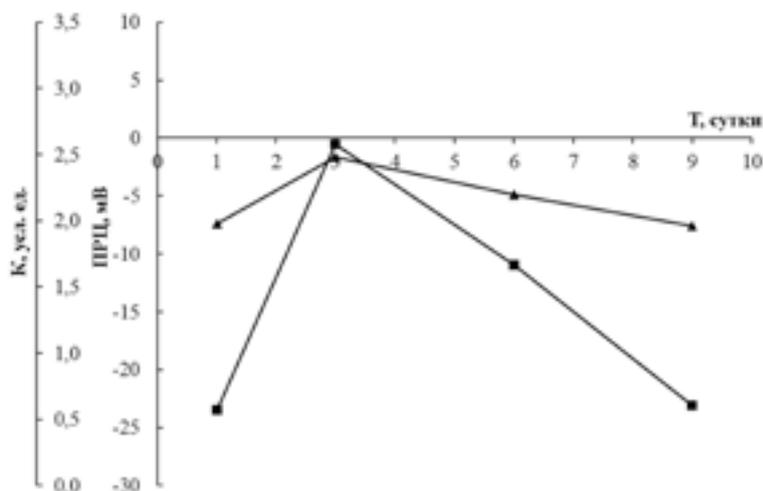


Рис. 3. Мониторинг ПРЦ платинового электрода в плазме крови (■) и коэффициента окислительного стресса (▼) пациента Р

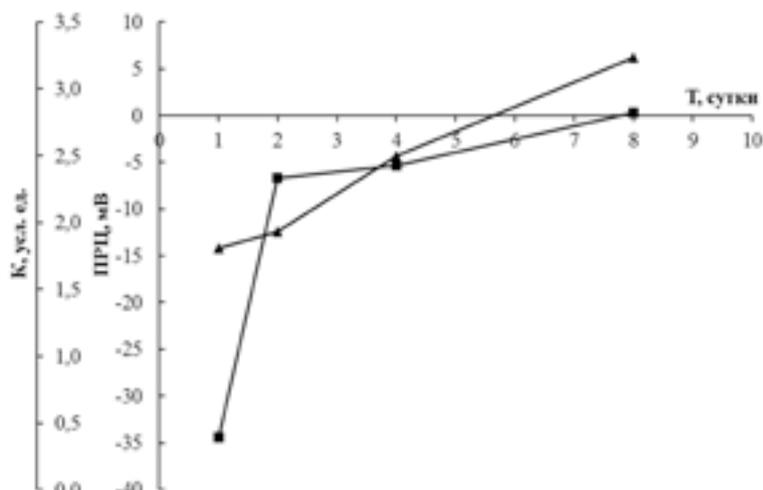


Рис. 4. Мониторинг ПРЦ платинового электрода в плазме крови (■) и коэффициента окислительного стресса (▼) пациента П

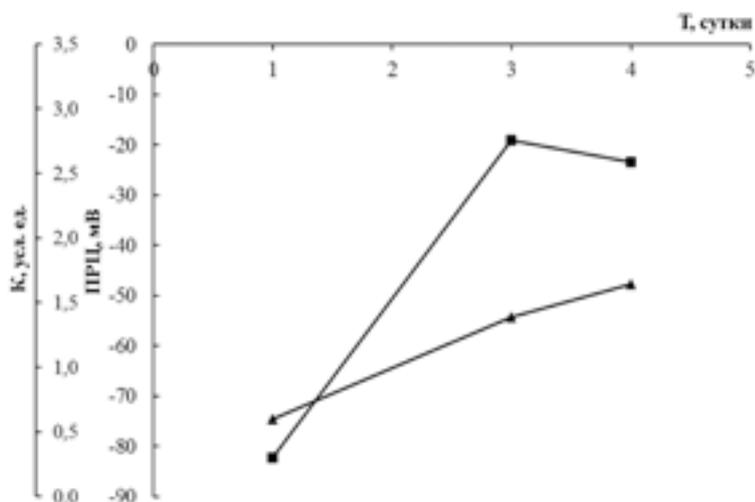


Рис. 5. Мониторинг ПРЦ платинового электрода в плазме крови (■) и коэффициента окислительного стресса (▼) пациента А

характерного для практически здоровых людей, т.е. значение ПРЦ по абсолютной величине больше -20 мВ. В половине указанных случаев величина сдвига потенциала в первые несколько суток составила более чем 25 мВ. Структура осложненных представлена в таблице.

Сдвиги величин ПРЦ платинового электрода в плазме крови, подобные обнаруженным у пациентов с острыми отравлениями ВПД, наблюдались нами при мониторинге пациентов отделения общей реанимации с травмами нескольких анатомических областей [11], состояние которых характеризовалось как критическое. Важно отметить, что при мониторинге ПРЦ платинового электрода в плазме крови указанных пациентов было обнаружено, что абсолютные величины и величины сдвига потенциала отличаются от группы пациентов с острыми отравлениями ВПД. Так, например, средние величины ПРЦ платинового электрода могут находиться в пределах, характерных для практически здоровых людей, однако на всем протяжении мониторинга отмечены аномальные сдвиги ПРЦ платинового электрода, как в положительную, так и в отрицательную область потенциалов (рис. 6). Максимальная величина сдвига составляла 134 мВ по абсолютной величине.

Таким образом, имеется возможность использования мониторинга величин ПРЦ платинового электрода в плазме крови пациентов с острыми отравлениями ВПД для прогнозирования неблагоприятного исхода и своевременной коррекции схемы интенсивной терапии.

Выводы:

1. Установлена взаимосвязь между величиной ПРЦ платинового электрода в плазме крови и значением коэффициентом окислительного стресса.

2. Данные мониторинга величин ПРЦ в плазмы крови у пациентов с острыми отравлениями веществами прижигающего действия могут служить дополнительным критерием оценки окислительного стресса.

Таблица

Структура осложнений у пациентов с острыми отравлениями ВПД

Осложнение	Критерий	ПРЦ > -20 мВ	ПРЦ > -20 мВ и ДПРЦ > 25 мВ
Без осложнений		1	2
Пневмония		1	-
Желудочно-кишечное кровотечение		2	1
Желудочно-кишечное кровотечение и пневмония		1	1
Летальный исход		1	2

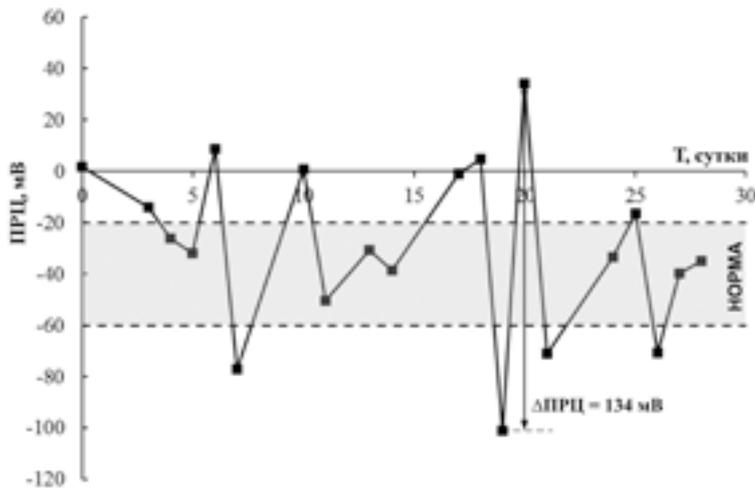


Рис. 6. Мониторинг ПРЦ платинового электрода в плазме крови пациента X. Диагноз: закрытая черепно-мозговая травма, острая и подострая субдуральные гематомы левой лобно-височной области (100 и 45 см³). Операции: декомпрессивная трепанация черепа, удаление острой и подострой субдуральных гематом. Осложнения: гнойный трахеобронхит, двусторонняя область нижнедолевая пневмония, менингит. Область между пунктирными линиями – величины ПРЦ платинового электрода в плазме крови, характерные для практически здоровых людей

3. Использование метода измерения ПРЦ платинового электрода в плазме крови в дополнение к другим диагностическим методам, может

повысить качество лечения за счет прогнозирования неблагоприятного исхода и своевременной коррекции схемы интенсивной терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Литвинова О.С., Калиновская М.В. Токсикологический мониторинг причин острых отравлений химической этиологии в Российской Федерации. Токсикологический вестник. 2017; 1: 5-9.
 2. Лужников Е.А., ред. Медицинская токсикология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
 3. Белова М.В., Ильяшенко К.К., Давыдов Б.В., Петров С.И., Батурова И.В., Нимаев Ж.Ц. и др. Особенности окислительного стресса в остром периоде химической болезни. Токсикологический вестник. 2007; 2: 12-5.
 4. Белова М.В., Ильяшенко К.К., Лужников Е.А. Окислительный стресс в неотложной токсикологии. Общая реаниматология. 2009; 5 (6): 40-4.
 5. Goldin M.M., Volkov A.G., Khubutiya M.S., Kolesnikov V.A., Blanchard G.J., Evseev A.K. et al. Redox potential measurement in aqueous solutions and biological media. ECS Transactions. 2008; 11 (21): 39-49.
 6. Гольдин М.М., Ромасенко М.В., Евсеев А.К., Левина О.А., Петриков С.С., Алещенко Е.И. и др. Оценка эффективности использования гипербарической оксигенации при острой церебральной патологии с помощью электрохимической методики. Нейрохирургия. 2010; 4: 33-9.
 7. Goldin Michael M., Khubutiya M.Sh.,

Evseev A.K., Goldin Mark M., Pinchuk A.V., Pervakova E.I. et al. Noninvasive Diagnosis of Dysfunctions in Patients After Organ Transplantation by Monitoring the Redox Potential of Blood Serum. Transplantation. 2015; 99 (6): 1288-92.
 8. Хубутия М.Ш., Евсеев А.К., Колесников В.А., Гольдин М.М., Давыдов А.Д., Волков А.Г. и др. Измерения потенциала платинового электрода в крови, плазме и сыворотке крови. Электрохимия. 2010; 46 (5): 569-73.
 9. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисле-

ния липидов по тесту с тиобарбитуровой кислотой. Вопросы медицинской химии. 1987; 33 (1): 118-22.
 10. Сергиенко В.И., Хубутия М.Ш., Евсеев А.К., Пинчук А.В., Новрузбеков М.С., Луцкы К.Н. и др. Диагностические и прогностические возможности электрохимических измерений редокс потенциала плазмы крови. Вестник Российской академии медицинских наук. 2015; 70 (6): 627-32.
 11. Евсеев А.К., Левина О.А., Петриков С.С., Пинчук А.В., Леонов Б.И., Беняев Н.Е. и др. Электрохимический прибор для определения редокс-потенциала плазмы и сыворотки крови. Медицинская техника. 2016; 1: 35-8.

REFERENCES:

1. Litvinova O.S., Kalinovskaya M.V. Toxicological monitoring of causes of acute poisonings of chemical etiology in the Russian Federation. Toxicological Review. 2017; 1: 5-9. (in Russian)
 2. Luzhniko E.A., ed. Medical toxicology. Moscow: GEOTAR Media; 2012. (in Russian)
 3. Belova M.V., Ilyashenko K.K., Davydov B.V., Petrov S.I., Baturova I.V., Nimayev Zh.Ts. et al. Specificity of oxidative stress in the course of the acute period of a chemical disease. Toxicological Review. 2007; 2: 12-5. (in Russian)
 4. Belova M.V., Ilyashenko K.K., Luzhnikov Y.A. Oxidative Stress in Emergency Toxicology. General Reanimatology. 2009; 5(6): 40-4. (in Russian)
 5. Goldin M.M., Volkov A.G., Khubutiya M.S., Kolesnikov V.A., Blanchard G.J., Evseev A.K. et al. Redox potential

measurement in aqueous solutions and biological media. ECS Transactions. 2008; 11 (21): 39-49.
 6. Goldin M.M., Romasenko M.V., Evseev A.K., Levina O.A., Petrikov S.S., Aleshchenko E.I. et al. Assessment of hyperbaric oxygenation efficacy for treatment of acute cerebral pathology using electrochemical method. The Russian Journal of Neurosurgery. 2010; 4: 33-9. (in Russian)

7. Goldin Michael M., Khubutiya M.Sh., Evseev A.K., Goldin Mark M., Pinchuk A.V., Pervakova E.I. et al. Noninvasive Diagnosis of Dysfunctions in Patients After Organ Transplantation by Monitoring the Redox Potential of Blood Serum. Transplantation. 2015; 99 (6): 1288-92.
 8. Khubutiya M.Sh., Evseev A.K., Kolesnikov V.A., Goldin M.M., Davydov A.D., Volkov A.G. et al. Measurements of Platinum Electrode Potential in

Blood and Blood Plasma and Serum. *Elektrokimiya*. 2010; 46 (5): 569-73. (in Russian)

9. Gavrilov V.B., Gavrilova A.R., Mazhul' L.M. Methods of determining lipid peroxidation products in the serum

using a thiobarbituric acid test. *Voprosy meditsinskoi khimii*. 1987; 33 (1): 118-22. (in Russian)

10. Sergienko V.I., Khubutiya M.S., Evseev A.K., Pinchuk A.V., Novruzbekov M.S., Lutsyk K.N. et al. Diagnostic and

Prognostic Possibilities of the Redox-Potential Electrochemical Measurements in Blood Plasma. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2015; 70 (6): 627-32. (In Russian)

11. Evseev A.K., Levina O.A., Petrikov

S.S., Pinchuk A.V., Leonov B.I., Benyaev N.E. et al. An Electrochemical Apparatus for Determination of the Redox Potential of Blood Plasma and Serum. *Meditsinskaya tekhnika*. 2016; 1: 35-8. (in Russian)

M.M. Potskhveriya, A.K. Evseev, A.Yu. Simonova, E.V. Klychnikova, I.V. Goroncharovskaya, V.A. Matkevich, M.M. Goldin, S.S. Petrikov

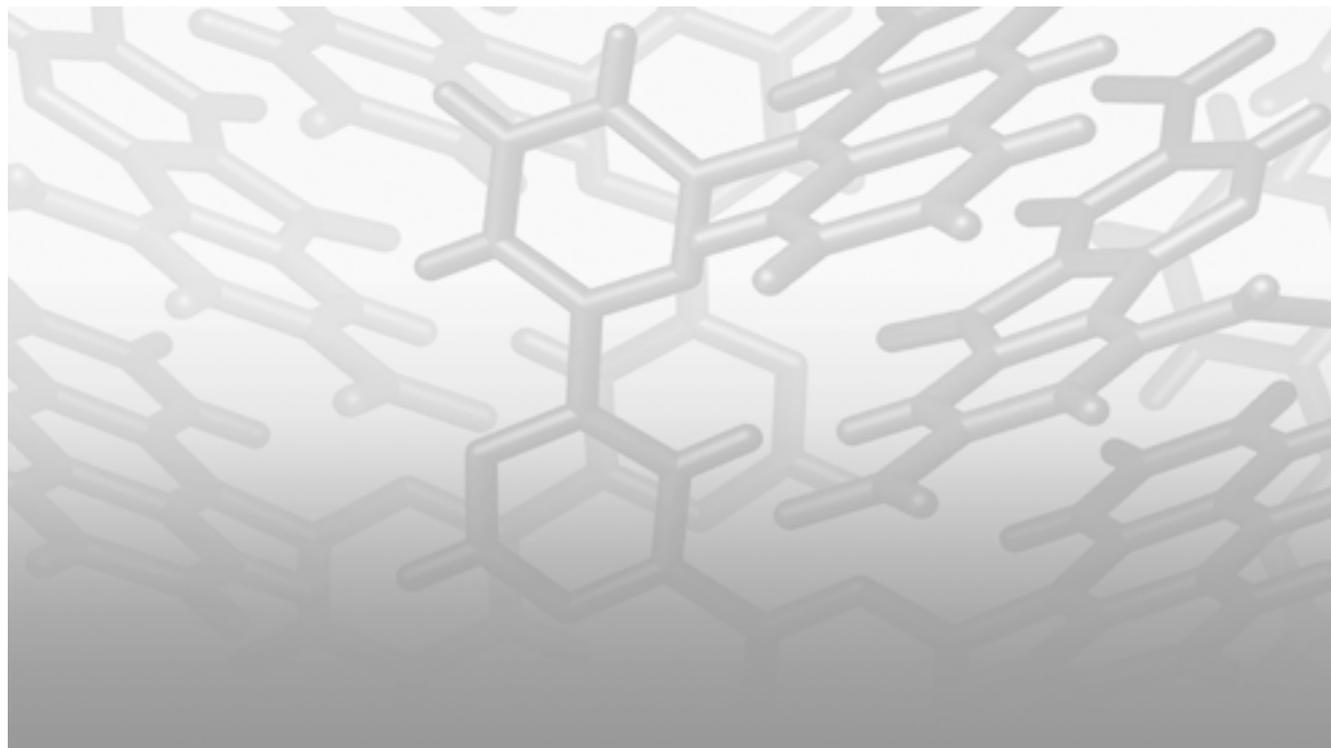
INTERRELATION OF PLATINUM ELECTRODE OPEN CIRCUIT POTENTIAL IN THE BLOOD PLASMA AND OXIDATIVE STRESS COEFFICIENT IN PATIENTS WITH ACUTE POISONING BY CAUTERANT AGENTS

N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Healthcare Department of Moscow, 129090, Moscow, Russian Federation

The relationship between the platinum electrode open circuit potential (OCP) in the blood plasma as an integral indicator of the balance of oxidation-reduction processes in the body with an oxidative stress coefficient (K) reflecting the balance of the lipid peroxidation and state of antioxidant system (LPO/AOS) in patients with acute poisoning by cauterant agents was investigated. The platinum electrode OCP in the blood plasma was measured using an original electrochemical technique. The oxidative stress coefficient was determined from the ratio of the malondialdehyde level to the total antioxidant activity of blood serum. The shift of the value of the platinum electrode OCP in blood plasma during the first 5-7 days towards the positive potential region coincided with the intensification of LPO processes and the decrease in total antioxidant activity of the blood serum. Sharp shift in the value of the platinum electrode OCP to the region of positive values (more than 25 mV) in patients with acute poisoning with cauterant agents coincides with the worsening of their condition. The data obtained during the monitoring of the platinum electrode OCP in blood plasma in patients with acute poisoning by cauterant agents allow to make a conclusion about the diagnostic capabilities of this technique for assessing the patient's severity and correcting his treatment.

Keywords: *open circuit potential, oxidative stress, electrode, blood plasma, malondialdehyde, total antioxidant activity, acute poisoning, cauterant agents.*

Материал поступил в редакцию 14.02.2018 г.



УДК 615.099

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ И ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЕЩЕСТВА ТИПА CS

Л.П. Эрдниев¹, Д.В. Горбунов²,
Я.А. Степанов¹, Е.Ю. Андреева¹,
Л.В. Горбунова², И.В. Мокшанов¹

¹ФГБУ 33 Центральный научно-исследовательский
испытательский институт Министерства обороны
Российской Федерации, 412918, г. Вольск,
Российская Федерация

²ФГБУН Институт токсикологии Федерального
медико-биологического агентства, 192019,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Проведена оценка показателей внешнего дыхания белых крыс при ингаляционном воздействии вещества типа CS. Установлено повышение дыхательного объема и минутного объема дыхания, а также отсутствие изменений частоты дыхания при воздействии рецептуры на уровне эффективных ингаляционных токсодоз. Установлено, что вещество типа CS вызывает значительное изменение двигательной активности.

Ключевые слова: аэрозоль, ингаляционная токсичность, ирританты, лакриматоры, вещества типа CS.

Введение. Политические, экономические и военные интересы многих стран в реалиях современного мира нуждаются в особых подходах к проведению боевых и специальных операций. В этой связи большую актуальность приобретают нелетальные средства воздействия – инкапсультанты. Обращает на себя внимание тот факт, что многие вещества, относящиеся к инкапсультантам, не подпадают в рамки химической «Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожения» 1993 года. К ним относят: стерниты, лакриматоры, наркотические анальгетики, эметики синтетических и природных веществ [1].

Лакриматоры представляют интерес своей способностью сковывать и предотвращать агрессивные действия живой силы в условиях гражданского конфликта. За текущий год полиция различных европейских стран и США неоднократно применяли слезоточивый газ против протестующих [2-4]. Также известно, что табельное вещество CS применяли военные специалисты армии США в ходе войны с целью вытеснения войск и населения Вьетнама [1].

В токсикологических исследованиях, направленных на изучение веществ типа CS хорошо

освещены особенности механизма действия, токсиметрические характеристики, объем и последовательность мероприятий по оказанию медицинской помощи [5, 6]. Вместе с тем, вопросы диагностики степеней тяжести поражения по изменениям физиологических показателей организма являются актуальными и не до конца изученными.

Цель работы: оценить влияние вещества типа CS на показатели внешнего дыхания и поведенческую активность белых крыс при ингаляционном воздействии на уровне эффективных доз.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили в стандартных лабораторных условиях. В опытах использовали клинически здоровых белых нелинейных крыс с массой тела от 0,18 до 0,22 кг. Животные за 10 ч до начала исследований лишались пищи. Потребление воды не ограничивали.

Животные были разделены на 3 группы: 1 – «фон» (без ингаляционных воздействий); 2 – «контроль» (при ингаляционном воздействии растворителя ДМФА); 3 – «эксперимент» (при ингаляционном воздействии вещества типа CS).

Генерацию растворов в аэрозоль производили компрессорным ингалятором «Пари Мастер» в камеру объемом 200 л. Вещество типа CS рас-

Эрдниев Леонид Петрович (Erdniev Leonid Petrovich), к.м.н., начальник отдела ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ, 412918, г. Вольск

Горбунов Дмитрий Вячеславович (Gorbunov Dmitriy Vyacheslavovich), к.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, gorbunoff69@mail.ru

Степанов Ярослав Андреевич (Stepanov Yaroslav Andreevich), старший научный сотрудник ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ, 412918, г. Вольск, yarespect@mail.ru

Андреева Елена Юрьевна (Andreeva Elena Yurievna), младший научный сотрудник ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ, 412918, г. Вольск, lenochka1552@yandex.ru

Горбунова Лариса Владимировна (Gorbunova Larisa Vladimirovna), к.м.н., старший научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, lvg1203@gmail.com

Мокшанов Игорь Викторович (Mokshanov Igor Victorovich), к.м.н., доцент, старший научный сотрудник ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ, 412918, г. Вольск

творяли в диметилформамиде (ДМФА) с массовой долей образца 10 %. Распыл осуществляли непрерывно. Время экспозиции для групп «контроль» и «эксперимент» составило 30 мин. Отбор проб для оценки концентрации аэрозоля в камере осуществляли дискретно на 15 и 30 минутах распыла посредством аспиратора со скоростью 5 л·мин⁻¹.

У животных всех групп оценивали показатели внешнего дыхания: частоту дыхания (ЧД), дыхательный объем (ДО), минутный объем дыхания (МОД), фазу вдоха, фазу выдоха с помощью плетизмографа фирмы «Emka Technologies» (Франция). У всех групп животных данные характеристики оценивали с 1 по 15 мин после извлечения из ингаляционной камеры.

Оценку влияния вещества типа CS на поведение экспериментальных животных проводили с использованием инфракрасного актиметра фирмы «Panlab» (Испания) с программным обеспечением ActiTrack. Тестирование животных осуществляли в течение 5 минут. Регистрировали: общую двигательную активность (суммарный показатель горизонтальной активности и стереотипии), количество переходов, среднюю скорость передвижения (см·с⁻¹), пройденную дистанцию (см), количество вертикальных стоек, латентное время выхода из центра (с), время замирания (с).

Предварительно у экспериментальных животных снимали фоновые показатели поведенческой активности без каких-либо воздействий (интактный контроль) и на фоне растворителя (контроль растворителя).

Статистический анализ результатов проводили по t-критерию Стьюдента и непараметрическому критерию Манна-Уитни (Statistica 6.0). Числовые значения представлены как среднее значение и стандартная ошибка.

Результаты и обсуждение. Результаты оценки концентрации аэрозоля представлены в таблице 1. Расчетная ингаляционная токсодоза вещества типа CS, полученная животными группы «эксперимент» составила 9,55 мг·мин·л⁻¹.

Результаты оценки параметров внешнего ды-

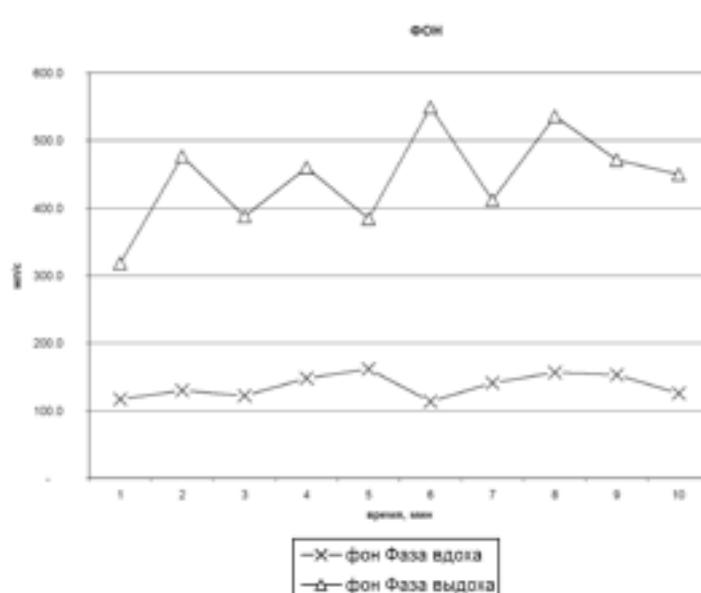


Рис. 1. Вариабельность показателей фаз вдоха и выдоха для группы «фон»

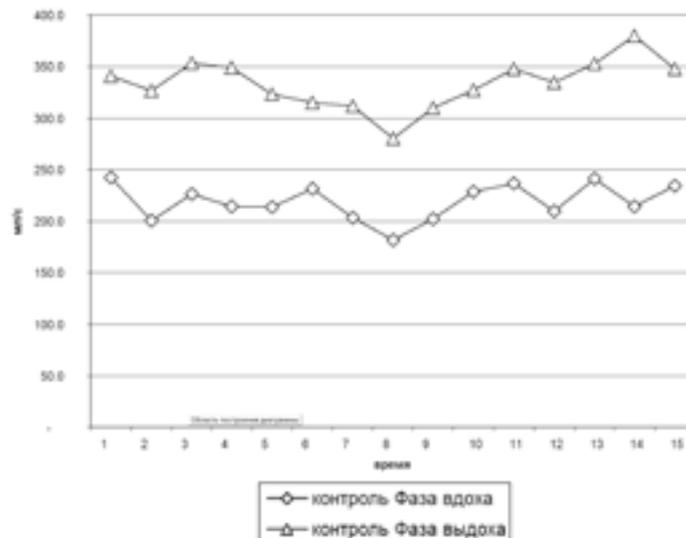


Рис. 2. Вариабельность показателей фаз вдоха и выдоха для группы «контроль»

хания белых крыс представлены в таблице 2 и на рисунках 1-3.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о статистически значимых изменениях параметров внешнего дыхания белых крыс при ингаляционном воздействии растворителя и вещества типа CS. Параметры ДО и МОД достоверно увеличи-

Таблица 1

Результаты оценки концентрации аэрозоля в камере и расчета ингаляционной токсодозы

№ трубки	Время отбора в период ингаляции, мин	Концентрация, мг·л ⁻¹	Ингаляционная токсодоза (Сt), мг·мин·л ⁻¹
1	15	0,4	9,55
2	30	0,5	

Таблица 2

Динамика изменения параметров внешнего дыхания белых крыс после ингаляционного воздействия вещества типа CS, (M±m)

Время, мин	Группа «фон», n=6			Группа «контроль», n=6			Группа «эксперимент», n=6		
	ЧДД, ед·мин ⁻¹	ДО, мл	МОД, мл·мин ⁻¹	ЧДД, ед·мин ⁻¹	ДО, мл	МОД, мл·мин ⁻¹	ЧДД, ед·мин ⁻¹	ДО, мл	МОД, мл·мин ⁻¹
1	118±9,8	1,9±0,2	219,3±17,1	138±19,3	2,1±0,3*	280,3±38,3*	117,8±6,9	3,5±0,1**	403,3±12,7**
2	149±12,7	1,3±0,2	180,6±9,1	113,0±5,1	2,3±0,1*	243,3±15,2*	115,8±9,4	3,2±0,1**	368,8±27,2**
3	127±14,8	1,3±0,2	166,0±23,3	104,3±7,5	2,5±0,2*	257,8±29,3*	113,3±13,8	3,1±0,1**	245,0±29,1*
4	132±11,9	1,9±0,4	181,2±10,9	117,3±15,0	2,3±0,1*	262,5±32,6	115,8±8,6	3,2±0,1**	369,0±33,7**
5	119±8,2	1,6±0,2	171,8±20,0	130,0±13,3	2,4±0,2*	314,3±33,3	113,5±6,7	3,3±0,2**	365,0±28,9*
6	113±6,1	1,4±0,1	153,1±15,4	120,3±7,5	2,3±0,2*	279,0±37,6	115,3±8,5	3,2±0,1**	360,0±23,9
7	111±6,9	1,5±0,1	170,3±20,4	140,5±12,4	2,2±0,2*	329,3±31,5*	113,0±7,8	3,2±0,1**	350,8±15,1*
8	101±4,7	1,5±0,1	157,7±15,7	133,5±7,2	2,4±0,3*	279,0±24,3	114,3±8,3	3,0±0,1**	344,3±19,9
9	102±3,3	1,4±0,1	155,5±18,0	132,5±4,8*	2,1±0,3*	319,5±52,4	114,3±4,1	3,2±0,2**	357,0±17,9*
10	120±10,4	1,5±0,1	164,7±20,8	122,8±5,0	2,3±0,2	294,3±32,7	112,5±5,6	3,1±0,1**	341,5±22,4
11	-	-	-	119,5±6,6	2,2±0,2	270,5±33,2	110,3±7,7	3,1±0,2#	341,8±34,2
12	-	-	-	126,8±4,4	2,3±0,2	259,5±23,5	112,3±5,4	3,1±0,2#	345,8±335,4
13	-	-	-	118,0±12,1	2,1±0,3	263,8±30,4	106,5±5,2	3,0±0,1#	317,5±25,4
14	-	-	-	130,5±8,8	2,4±0,3	273,8±44,0	104,3±3,3#	2,8±0,1#	294,3±24,1
15	-	-	-	127,8±4,9	2,4±0,3	274,0±39,1	106,5±7,2	2,7±0,2	287,8±28,5

Примечание:

* – различия с группой «фон» достоверны при $p \leq 0,05$;

– различия с группой «контроль» достоверны при $p \leq 0,05$

ваются как по сравнению с «фоном» так и с «контролем» при неизменной ЧДД.

Следует отметить, что исследуемые показатели при воздействии на животных вещества типа CS одинаково изменяются на протяжении 12 мин, после чего отмечается тенденция к их восстановлению. Полное восстановление показателей внешнего дыхания животных групп «контроль» и «эксперимент» происходило после 14-15 мин после извлечения из ингаляционной камеры.

Графическая интерпретация результатов оценки фаз вдоха и выдоха свидетельствуют о нарушении цикличности и высокую вариабельность данных показателей на протяжении первых 7 мин для группы «эксперимент» – наблюдаем пересечение зависимых (рис. 3). Для групп «фон»



Рис. 3. Вариабельность показателей фаз вдоха и выдоха для группы «эксперимент»

и «контроль» на протяжении 15 мин не происходит изменений в цикличности вдоха и выдоха, о чем свидетельствует отсутствие пересечения зависимых и их равноудаленность относительно друг друга (рис. 1,2).

Известны два основных механизма действия раздражающих веществ, связанных с их влиянием на нервные окончания [5, 6]: прямой (ингибирование SH-групп структурных белков и ферментов; действие на ионные каналы возбудимой мембраны) и опосредованный (через активацию процессов образования в покровных тканях брадикинина, гистамина, простогландинов, серотонина, которые вторично возбуждают окончания ноцицептивных волокон). Местное воспаление, обусловленное усиленным выбросом простогландинов в ответ на действие исследуемой рецептуры, по всей видимости вызвало уве-

личение дыхательного объема и, соответственно, минутного объема дыхания.

Опираясь на представленные выше литературные данные, следует отметить, что отсутствие статистически значимых изменений частоты дыхания можно объяснить выбросом брадикинина и гистамина, которые вызывают спазм гладкой мускулатуры, но при воздействии вещества типа CS, их выброс оказывает компенсаторное действие.

Результаты исследований поведенческой активности белых крыс при ингаляционном воздействии веществом типа CS представлены на рисунке 4

Анализ результатов экспериментов показал, что вещество типа CS вызывает значительное изменение двигательной активности экспериментальных животных по отношению к груп-

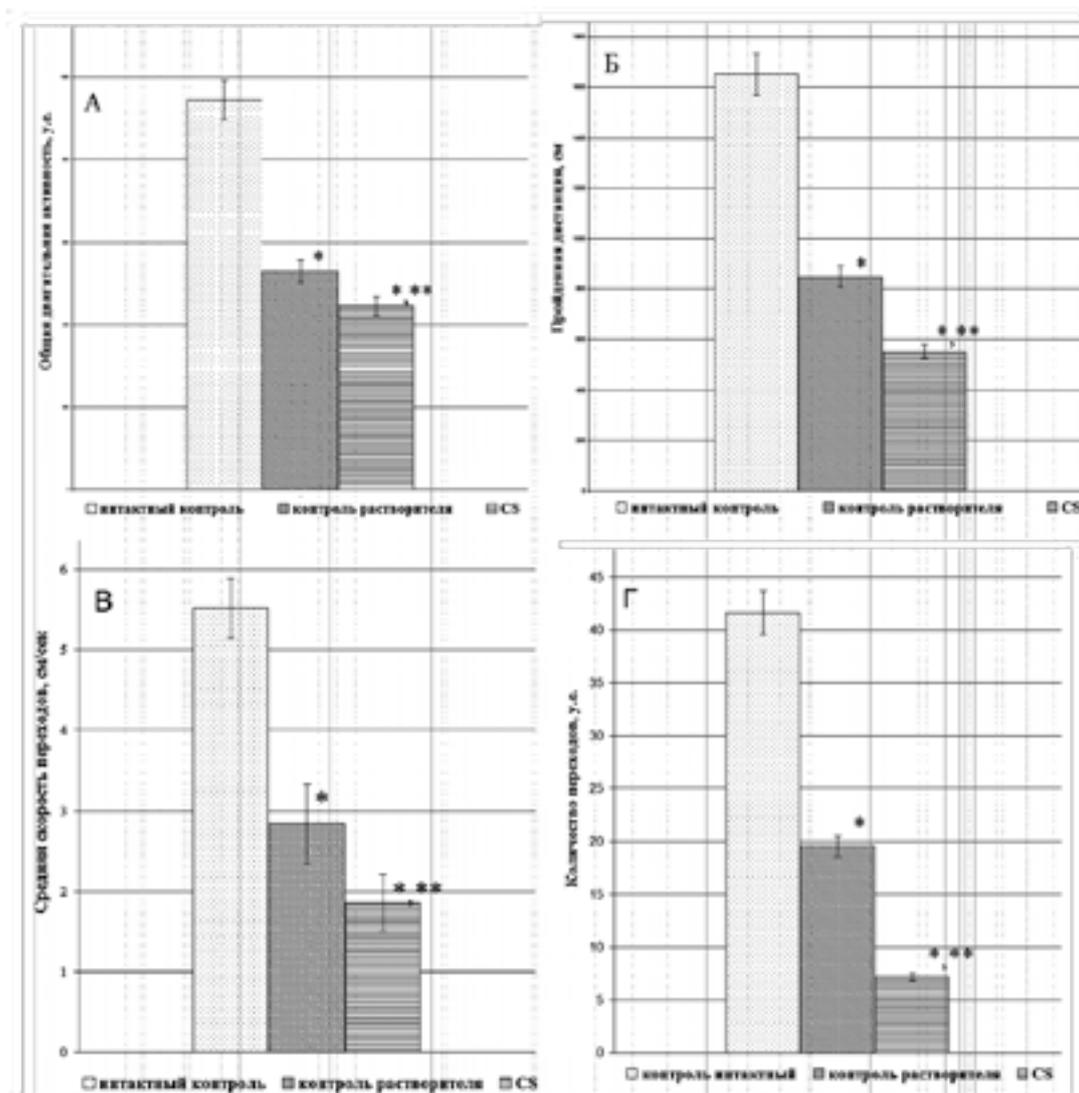


Рис. 4. Влияние ингаляционного воздействия вещества типа CS на двигательную активность экспериментальных животных. Примечание: (* - статистически значимые различия между интактным контролем и контролем растворителя, при $p \leq 0,05$ для независимых выборок; ** - статистически значимые различия между контролем растворителя и CS, при $p \leq 0,05$ для зависимых выборок)

пе интактного контроля и группе контроля растворителя, о чем свидетельствует достоверное угнетение показателя общей двигательной активности и пройденной дистанции (рис. 4 А, Б), снижение средней скорости передвижения (рис. 4 В), а также уменьшение количества переходов (рис. 4 Г). Значимых изменений в ориентировочно-исследовательском поведении экспериментальных животных зафиксировано не было.

Заключение. Таким образом, в результате исследований:

- произведено моделирование ингаляционного

воздействия вещества типа CS на уровне токсичной дозы (9,55 мг·мин·л⁻¹) в статических условиях;

- проведена оценка изменений параметров внешнего дыхания белых крыс, по результатам которой выявлено достоверное увеличение дыхательного объема и минутного объема дыхания в течение 12 мин после ингаляции на 50-52%;

- проведена оценка поведенческой активности белых крыс после ингаляционного воздействия вещества типа CS. Установлено, что двигательная активность крыс после воздействия исследуемого вещества достоверно снижается.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Владимиров В.А. Основные направления развития традиционных и нетрадиционных средств ведения войны и защиты от них / В.А. Владимиров // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. - 2014. - С. 99-134.
2. В Париже полиция применила

слезоточивый газ против протестующих // М.: RBC от 08.05.2017. Available at // <http://www.rbc.ru/rbcfree/news/509f9b639a79477950904152>.
3. Турецкая полиция применила газ и резиновые пули // М.: RBC от 25.06.2017. Available at // <http://www.rbc.ru/>

society/25/06/2017/594ff39e9a7947363b8aa42.

4. В США прошли демонстрации против норм шариата // М.: Коммерсант.ru от 11.06.2017. Available at // <http://www.kommersant.ru/doc/3323934>.

5. Куценко С.А. Военная токсикология,

радиобиология и медицинская защита / С.А. Куценко [и др.]. - СПб.: Фолиант, 2004. - 528 с.

6. Лошадкин Н.А. Военная токсикология / Н.А. Лошадкин, В.А. Курляндский, Г.В. Беженарь, Л.В. Дарина. - М.: Медицина, 2006. - 208 с.

REFERENCES:

1. Vladimirov V.A. The main directions for the development of traditional and non-traditional means of warfare and defense against them / V.A. Vladimirov // Civil Protection Strategy: Problems and Research. - 2014. - С. 99-134 (in Russian).
2. In Paris, police used tear gas against

protesters // M.: RBC от 08.05.2017. - Available at: <http://www.rbc.ru/rbcfree/news/509f9b639a79477950904152> (in Russian).

3. Turkish police used gas and rubber bullets // M.: RBC от 25.06.2017. - Available at: // <http://www.rbc.ru/society/25/06/2017/594ff39e9a7947363b8>

aa42 (in Russian).

4. Demonstrations against Sharia law were held in the USA // M.: Kommersant.ru 11.06.2017. - Available at // <http://www.kommersant.ru/doc/3323934> (in Russian).

5. Kucenko S.A. Military toxicology, radiobiology and medical protection /

Kucenko S.A. - SPb.: Foliant, 2004. - 528 c. (in Russian).

6. Loshadkin N.A. Military toxicology / N.A. Loshadkin, V.A. Kurlyandskij, G.V. Bezenar', L.V. Darina. - M.: Medicine, 2006. - 208 c. (in Russian).

L.P. Erdniev¹, D.V. Gorbunov², Y.A. Stepanov¹, E.Y. Andreeva¹, L.V. Gorbunova², I.V. Mokshanov¹

DYNAMICS OF INDEXES OF EXTERNAL BREATH AND BEHAVIOR ACTIVITIES OF WHITE RATS WHEN EXPOSED TO A SUBSTANCE OF THE CS TYPE

¹33 Central Research Testing Institute, Ministry of Defense of the Russian Federation, 412918, Volsk, Russian Federation

²Institute of Toxicology, Federal Medical Biological Agency, 192019, St. Petersburg, Russian Federation

The indexes of external respiration of white rats exposed by inhalation to a substance of the CS type were estimated. Increase in the respiratory volume and respiratory minute volume as well as the absence of changes in respiratory rate when exposed to the formulation at the level of effective inhalation toxodosis has been found. It has been established that substance of the CS type causes a significant change in motor activity.

Keywords: aerosol, inhalation toxicity, irritants, lacrimators, substances of the CS type.

Материал поступил в редакцию 02.04.2018 г.



УДК 615.099 : 57.04

СРАВНИТЕЛЬНАЯ И КОМБИНИРОВАННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ АЛЮМИНИЯ, ТИТАНА И КРЕМНИЯ И ЕЁ ОСЛАБЛЕНИЕ КОМПЛЕКСОМ БИОПРОТЕКТОРОВ

И.А. Минигалиева¹, Б.А. Кацнельсон¹,
Л.И. Привалова¹, М.П. Сутункова¹, В.Б. Гурвич¹,
В.Я. Шур², Е.В. Шишкина², И.Е. Валамина,
О.Г. Макеев³, В.Г. Панов⁴, А.Н. Вараксин,
С.В. Клинова¹, С.В. Соловьёва¹, Е.Ю. Мещерякова³

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

² Уральский центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии», ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», 620000, г. Екатеринбург, Российская Федерация

³ Центральная научно-исследовательская лаборатория Уральского государственного медицинского университета, 620109, г. Екатеринбург, Российская Федерация

⁴ ФБУН «Институт промышленной экологии» УрО РАН, 620990, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Стабильные суспензии наночастиц (НЧ) оксидов алюминия, титана и кремния, полученные с помощью лазерной абляции соответствующих элементных мишеней 99,99% чистоты под слоем деионизированной воды, вводились крысам внутрибрюшинно 18 раз на протяжении 6 недель изолированно или в различных комбинациях. Развитие субхронической интоксикации оценено большим числом функциональных, биохимических и морфометрических показателей состояния организма. Найдено, что во многих отношениях Al_2O_3 -НЧ наиболее токсичны сами по себе и являются ведущим компонентом изученных комбинаций. Математическое моделирование с помощью построения поверхности отклика (the Response Surface Methodology) показало, что реакция организма на бинарные сочетания исследованных НЧ характеризуется всеми возможными вариантами типов комбинированной токсичности (аддитивность, субаддитивность и супераддитивность однонаправленного действия, различные варианты противонаправленности действия) в зависимости от того, по какому эффекту она оценивается, а также от его уровня и от дозы НЧ. На фоне действия любого третьего вида НЧ тип бинарной комбинированной токсичности остальных двух может существенно измениться. Многие неблагоприятные эффекты

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), к.б.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией промышленной токсикологии отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, ilzira-minigalieva@yandex.ru
Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, bkaznelson@etel.ru
Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), доктор медицинских наук, профессор, зав. лабораторией научных основ биологической профилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, Екатеринбург, privaloval@yahoо.com
Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), к.м.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией токсикологии окружающей среды отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, marinasutunkova@yandex.ru
Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich), д.м.н., директор ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, gurvich@umrc.ru
Шур Владимир Яковлевич (Shur Vladimir Yakovlevich), доктор физико-математических наук, профессор, директор, Уральский центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии», Институт естественных наук и математики, ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620000, г. Екатеринбург, vladimir.shur@urfu.ru
Шишкина Екатерина Владимировна (Shishkina Ekaterina Vladimirovna), кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии», ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», г. Екатеринбург, ekaterina.shishkina@urfu.ru
Валамина Ирина Евгеньевна (Valamina Irene Evgenjevna), к.м.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией ЦНИЛ ГБОУ ВПО УГМУ, г. Екатеринбург, Российская Федерация, ivalamina@mail.ru
Макеев Олег Германович (Makeyev Oleg Hermanovich), д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточной и генной терапии Института медицинских клеточных технологий, ГБОУ ВПО УГМУ, г. Екатеринбург, oomt305@mail.ru
Панов Владимир Григорьевич (Panov Vladimir Grigoryevich), к. ф.-м. н., старший научный сотрудник лаборатории математического моделирования в экологии и медицине ИПЭ УрО РАН, г. Екатеринбург, vpanov@esko.uran.ru
Вараксин Анатолий Николаевич (Varaksin Anattolij Nikolayevich), д. ф.-м.н. профессор, заведующий лабораторией математического моделирования в экологии и медицине ИПЭ УрО РАН, г. Екатеринбург, varaksin@esko.uran.ru
Клинова Светлана Владиславовна (Klinova Svetlana Vladislavovna), младший научный сотрудник ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, klinova.svetlana@gmail.com
Соловьёва Светлана Николаевна (Solovyeva Svetlana Nikolaevna), м.н.с. лаборатории токсикологии среды обитания, ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, solovyevasn@umrc.ru
Мещерякова Екатерина Владимировна (Meshcheryakova Ekaterina Vladimirovna), младший научный сотрудник ЦНИЛ ГБОУ ВПО УГМУ, г. Екатеринбург, katusha-ugma@rambler.ru

действия комбинации $[Al_2O_3\text{-НЧ}+TiO_2\text{-НЧ}+SiO_2\text{-НЧ}]$, включая её генотоксичность, были существенно ослаблены пероральным назначением комплекса безвредных биопротекторов.

Ключевые слова: наночастицы, субхроническое воздействие, сравнительная токсичность, комбинированная токсичность, биопротекторы.

Введение. Токсичность наночастиц металлов, металлоидов и особенно их оксидов (MeO-НЧ) интенсивно изучается нами на протяжении последних лет [1-10], главным образом потому, что они составляют существенную фракцию промышленных аэрозолей, образующихся при многих сварочных и металлургических технологиях [10]. Во всех этих случаях имеет место воздействие на работающих не одного какого-либо вида MeO-НЧ, а той или иной комбинации таких MeO-НЧ, что связывает данную проблему с другой, тоже давно интересующей наш коллектив и не менее актуальной, а именно с изучением общих закономерностей комбинированной токсичности. Такие закономерности для MeO-НЧ [6, 7, 9, 11, 12], в принципе совпадали с теми, которые ранее были установлены в экспериментах с растворимыми солями токсичных элементов [13, 14]. В дальнейшем была подтверждена изучением токсичности комбинаций наночастиц (NiO-НЧ+Mn₃O₄-НЧ) [6, 7, 12]; (PbO-НЧ+CuO-НЧ), (PbO-НЧ+ZnO-НЧ), (ZnO-НЧ+CuO-НЧ; PbO-НЧ+CuO-НЧ+ZnO-НЧ) [9, 12]. Тем не менее, мы полагаем, что для проверки, уточнения и развития вышеприведенных обще-теоретических положений накопление новых экспериментальных данных всё ещё необходимо. Вместе с тем, такие данные нужны и для обоснования частных решений по оценке и управлению токсикологическими рисками в конкретных производственных условиях. Именно этими соображениями мы руководствовались, выбирая для исследования ранее не изучавшиеся комбинации наночастиц $Al_2O_3\text{-НЧ}$, $TiO_2\text{-НЧ}$ и $SiO_2\text{-НЧ}$, преобладающие в усреднённом составе аэрозолей конденсации, загрязняющих воздух рабочей зоны в производстве алюминиево-титановых лигатур.

В качестве искусственных (engineered) наноматериалов последние два относятся к числу наиболее широко производимых и используемых, а потому часто подвергавшихся токсикологической оценке, хотя, как правило, *in vitro* и значительно реже – в кратковременных экспериментах на животных. По вопросу о токсичности $TiO_2\text{-НЧ}$ примером могут служить публикации [15-21 и др.], о токсичности $SiO_2\text{-НЧ}$ – [22-30 и др.]. Что же касается токсичности $Al_2O_3\text{-НЧ}$, то если не считать нескольких исследований, проведенных на одноклеточных водорослях или на растительных клетках, она изучена даже на клеточных культурах заметно меньше [31-33] и лишь в одной из этих работ [33] – также при однократном пероральном введении мышам. Нам не встрети-

лось ни одной публикации, посвященной сравнительной или комбинированной токсичности рассматриваемых трёх MeO-НЧ или хотя бы любой пары из них.

Наряду с этим, практическое значение имеет поиск биопротекторов, назначение которых в безвредных дозах могло бы повысить резистентность организма к действию данной комбинации подобно тому, как это было найдено по отношению к действию ряда других MeO-НЧ и их комбинаций [3, 5, 6, 9, 20].

Материалы и методы исследования.

Суспензии сферических MeO-НЧ были изготовлены специально для данного исследования путём лазерной абляции мишеней из элементного металла (Al и Ti) или полупроводника (Si) 99,9%-ной чистоты; методика описана нами ранее [10]. Концентрация суспензий $TiO_2\text{-НЧ}$ и $SiO_2\text{-НЧ}$ была, как и во всех наших предыдущих экспериментах с другими MeO-НЧ, повышена до 0,5 мг/мл с помощью частичного упаривания при 50 °С, но концентрация суспензии $Al_2O_3\text{-НЧ}$ могла быть без потери стабильности повышена лишь до 0,25 мг/мл. Распределение НЧ по диаметрам было симметричным при среднем диаметре 21 ± 6 нм для $Al_2O_3\text{-НЧ}$, 27 ± 7 нм для $TiO_2\text{-НЧ}$ и 43 ± 1 нм для $SiO_2\text{-НЧ}$. Эксперимент был проведен на 4-месячных аутбредных крысах-самцах собственного разведения с исходной массой тела около 290 г, по 12 или более особей в каждой группе. Субхроническая интоксикация моделировалась путём повторных внутрибрюшинных инъекций крысам суспензий соответствующих MeO-НЧ. Каждый вид MeO-НЧ вводился в/б в дозе 0,5 мг на крысу для $TiO_2\text{-НЧ}$ и $SiO_2\text{-НЧ}$ или 0,25 мг для $Al_2O_3\text{-НЧ}$ в 1 мл суспензии 3 раза в неделю на протяжении 6 недель. Параллельно экспонировались группы, получавшие либо только один вид MeO-НЧ в указанных дозах плюс 2 мл деионизированной воды; либо одну из трёх возможных бинарных комбинаций этих MeO-НЧ ($Al_2O_3\text{-НЧ} + TiO_2\text{-НЧ}$; $Al_2O_3\text{-НЧ} + SiO_2\text{-НЧ}$; $SiO_2\text{-НЧ} + TiO_2\text{-НЧ}$) плюс 1 мл деионизированной воды; либо тройную комбинацию тех же MeO-НЧ в тех же дозах; либо ту же тройную комбинацию в половинной дозировке; либо 3 мл деионизированной воды. Половина крыс последних двух из перечисленных групп получали перорально на протяжении всего экспозиционного периода биопротекторный комплекс (БПК), в состав которого входили: глютамат натрия (160 мг с питьём 1,5%ного раствора), глицин (12 мг с кор-

мом), N-ацетилцистеин (30 мг с кормом), витамин С (4,4 мг с кормом), Е (0,84 мг с кормом), селенид (4 мг на крысу с кормом), препарат рыбьего жира с высоким содержанием витамина А и ПНЖК класса омега-3 (1 капля сублингвально), йодистый калий (4 мг с кормом), карбонат кальция (160 мг на крысу с кормом), яблочный пектин (1 г/кг в смеси с кормом). Основания к выбору перечисленных протекторов и доз даны в [10].

Ввиду ограниченного объёма статьи мы не перечисляем здесь все измеренные после завершения экспозиций 60 функциональных и биохимических показателей состояния организма, по средним значениям которых проводились межгрупповые сравнения (те, по которым были получены значимые результаты, упоминаются при их обсуждении). Кроме того было проведено гистологическое изучение печени и почек с морфометрией. Генотоксический эффект «*in vivo*» был оценен по фрагментации геномной ДНК в ПДАФ-тесте на ядродержащих клетках крови.

Математическое моделирование бинарного комбинированного действия по всем его измеренным эффектам было проведено с помощью методологии построения поверхности отклика - Response Surface Method (RSM) с построением на её основе изобол Лёве [34]. На той же математической основе давалась характеристика трёхфакторного действия с помощью риск-ориентированного двухэтапного подхода, ранее предложенного и апробированного нами [9, 35]. На первом этапе оцениваются варианты комбинированной токсичности для каждого из трёх парных сочетаний, входящих в тройную комбинацию. На втором этапе анализа все эффекты токсического воздействия классифицируются в зависимости от того, оказывается ли тип комбинированной токсичности той же самой пары, но на фоне действия третьего фактора более неблагоприятным

для организма (класс А), менее неблагоприятным для организма (класс В) и остаётся существенно не изменившимся (класс С).

Результаты и их обсуждение.

Из приблизительно 400 величин, полученных в общей сложности во всех 6 подопытных группах изолированного или двухфакторного действия, вместе взятых, только 52 статистически значимо отличались от соответствующих контрольных показателей. Несмотря на то, что Al_2O_3 -НЧ вводился в 2 раза меньшей дозировке, чем остальные MeO -НЧ, по большинству показателей он вызвал практически те же самые сдвиги, что TiO_2 -НЧ или SiO_2 -НЧ, а это косвенно свидетельствует о большей токсичности Al_2O_3 -НЧ. К тому же, по некоторым показателям (снижение содержания гемоглобина, снижение гематокрита, сдвиг рН мочи в кислую сторону и повышение содержания в ней белка, мочевины, мочевой кислоты, креатинина при сниженных массовых коэффициентах обеих почек) действие Al_2O_3 -НЧ было более выраженным, чем действие двух других MeO -НЧ. Так, например, содержание гемоглобина (г/л), равное $158,89 \pm 1,16$ в контрольной группе, статистически значимо (при $P < 0,05$ по *t*-критерию Стьюдента) снизилось при действии всех MeO -НЧ, но при действии TiO_2 -НЧ (до $149,00 \pm 3,64$) и SiO_2 -НЧ (до $149,71 \pm 2,74$) это снижение было значимо менее существенным, чем при действии Al_2O_3 -НЧ (до $141,14 \pm 1,99$)

Математическое RSM-моделирование выявило эффект-зависимую и дозо-зависимую неоднозначность типологии бинарного комбинированного действия. Поскольку это принципиальное положение, обоснованное и неоднократно подтверждённое нами ранее ([4, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 34] и др.), данным экспериментом лишь дополнительно подтверждается, мы считаем возможным ограничиться иллюстрацией его примерами, приведенными на рисунках 1 - 3.

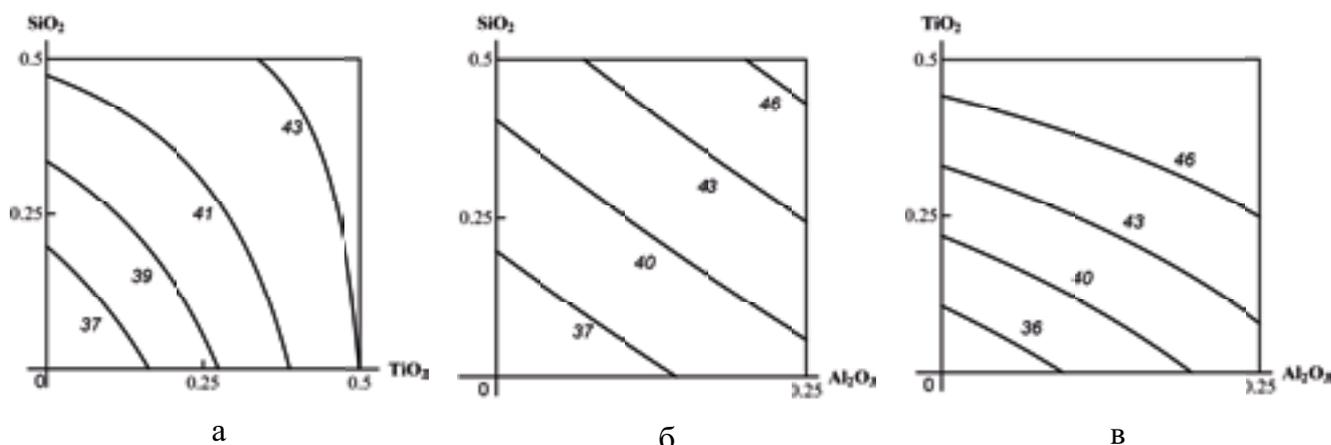


Рис. 1. Примеры изоболограмм комбинированной субхронической токсичности, оцениваемой по повышению концентрации церулоплазмينا в сыворотке крови при действии (а) SiO_2 -НЧ + TiO_2 -НЧ (субаддитивность); (б) SiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ (аддитивность); (в) TiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ (незначительная субаддитивность). На осях дозы соответствующих MeO -НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в мг%).

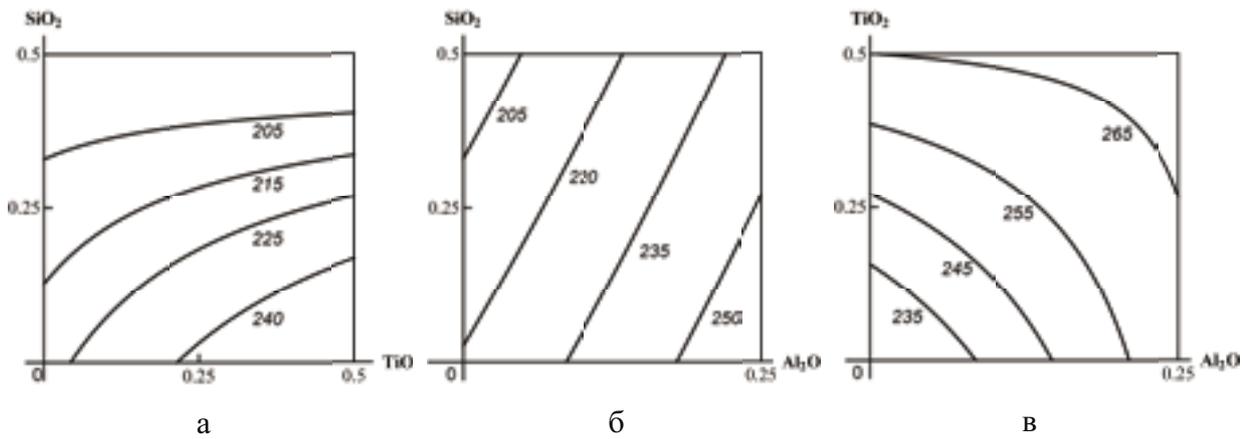


Рис. 2. Примеры изоболограмм комбинированной субхронической токсичности, оцениваемой по повышению концентрации АсАТ в сыворотке крови при действии (а) SiO₂-НЧ + TiO₂-НЧ (противонаправленность); (б) SiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ (противонаправленность); (в) TiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ (субаддитивность однонаправленного действия). На осях дозы соответствующих MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в ИЕ/л)

Токсическое действие тройной комбинации, оцениваемое по функциональным и биохимическим эффектам, было классифицировано на основе двухэтапного анализа, описанного в Разделе 2. В целом, на класс А пришлись 35%, на класс В - 43%, на класс С - 22% всех таких эффектов. При рассмотрении в качестве третьего фактора Al₂O₃-НЧ несколько преобладает класс А (42%), в то время как для двух остальных MeO-НЧ – класс В (44%). Пример эффекта, отнесенного к наиболее неблагоприятному классу А, дан изоболограммами на рисунке 4.

Как и при всех других ранее изученных нами субхронических интоксикациях металлосодержащими наночастицами, наиболее выраженным гистопатологическим проявлением нефротоксичности были дегенеративные изменения эпителия проксимальных извитых канальцев, включая потерю щёточной каёмки, а в конечном итоге – полная десквамация эпителиальных клеток. Как видно из таблицы 1, при изолированном воздействии TiO₂-НЧ оба показателя были несколько выше в сравнении не только с воздействием Al₂O₃-НЧ (что могло бы быть объяснено меньшей дозировкой последнего), но и с воздействием SiO₂-НЧ. Наиболее вероятно, что непосредственно на почки металлы действуют не столько в форме персистирующих MeO-НЧ, сколько в виде ионов, отдаваемых ими в результате солюбилизации в биологических средах, доказанной нами неоднократно [8, 10]. Поэтому можно допустить, что особая нефротоксичность TiO₂-НЧ объясняется как раз наиболее высокой растворимостью, которая была нами показана при добавлении бычьей эмбриональной сыворотки «in vitro» к каждой наносuspension.

В той же таблице 1 морфометрические показатели бинарной нефротоксичности бинарных комбинаций сопоставлены с соответствующи-

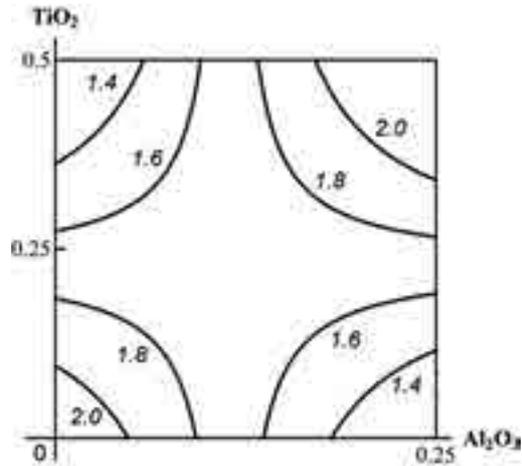


Рис. 3. Неоднозначность типа комбинированной субхронической токсичности TiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ, оцениваемой по снижению содержания гамма-глутамилтранспептидазы в сыворотке крови: субаддитивность однонаправленного действия при малых дозах и относительно высоких уровнях эффекта; супераддитивность – при высоких дозах и таких же уровнях эффекта; противонаправленное действие - при малых дозах и относительно низких уровнях эффекта, а так же при высоких дозах и относительно низких уровнях эффекта. На осях дозы соответствующих MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в ИЕ/л)

ми показателями действия тройной комбинации при полной и половинной дозировке последней. Можно отметить, что добавление SiO₂-НЧ к наиболее нефротоксичной комбинации (Al₂O₃-НЧ + TiO₂-НЧ) усилило эффект только незначительно (возможная субаддитивность действия), в то время как добавление Al₂O₃-НЧ к комбинации (SiO₂-НЧ + TiO₂-НЧ) усилило его вдвое и (причём по показателю потери щёточной каёмки статистически значимо). Сама по себе связь этого эффекта с воздействием на организм изучаемой

Морфометрические показатели повреждения эпителия проксимальных извитых канальцев в почках крыс после субхронического воздействия Al_2O_3 -НЧ, TiO_2 -НЧ и SiO_2 -НЧ отдельно либо в комбинациях ($\bar{x} \pm s.e.$)

Показатель	Группа, получавшая в/б MeO-НЧ									
	Конт-роль	Al_2O_3	TiO_2	SiO_2	$Al_2O_3 + TiO_2$	$Al_2O_3 + SiO_2$	$TiO_2 + SiO_2$	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в половинной дозировке	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в полных дозах	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в полных дозах на фоне БПК
% потери щеточной каёмки	1,49 \pm 0,56	1,85 \pm 0,47	3,61 \pm 0,99*	2,24 \pm 0,58	6,45 \pm 1,07* ^{x@}	4,23 \pm 0,80* ^{+@}	3,64 \pm 0,70*	3,06 \pm 0,84 [#]	7,19 \pm 1,47*	1,99 \pm 0,43 [#]
% десквамации эпителия	0,00 \pm 0,00	0,15 \pm 0,15	0,42 \pm 0,36	0,30 \pm 0,25	0,97 \pm 0,48*	0,29 \pm 0,17	0,14 \pm 0,14	0,66 \pm 0,47	1,04 \pm 0,39*	0,18 \pm 0,16 [#]

Примечание: значком * обозначено статистически значимое ($P < 0,05$ по t Стьюдента) отличие от контрольного показателя, + – от показателя группы, получавшей SiO_2 , x – от показателя группы, получавшей TiO_2 , @ – от показателя группы, получавшей Al_2O_3 ; # – от показателя группы, получавшей тройную комбинацию в полной дозировке без БПК

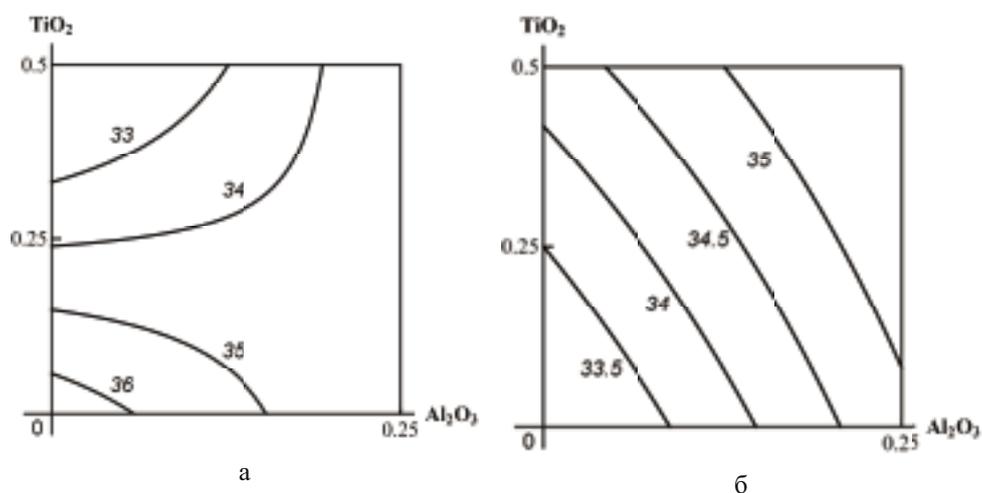


Рис. 4. Пример трёхфакторной токсичности, отнесенной к классу "А": (а) субаддитивное или противонаправленное (для разных уровней эффекта и доз) действие комбинации (Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ) на содержание креатинина в сыворотке крови в отсутствие третьего фактора переходит (для всех соотношений уровней эффекта и доз) в (б) аддитивное на фоне одновременного влияния наночастиц SiO_2 -НЧ. Дозы MeO-НЧ на осях даны в мг на крысу. Числа на линиях соответствуют величине показателя эффекта (мкмоль/л)

комбинации подтверждается его явной зависимостью от действующей дозы комбинации. Вместе с тем, фоновое воздействие биопротекторного комплекса (БПК) ослабило нефротоксический эффект тройной комбинации в значительно большей мере, чем двукратное уменьшение токсической дозы.

Как видно из изоболограмм, приведенных на рисунке 5, только в двух бинарных комбинациях, включающих Al_2O_3 -НЧ, по широкому диапазону доз выявлена несомненная аддитивность нефротоксического действия по показателю потери щеточной каёмки с не значимым статистически,

но тем не менее явным отклонением от неё в сторону синергизма (супераддитивности). Напротив, в комбинации (SiO_2 -НЧ + TiO_2 -НЧ) явно преобладает вклад TiO_2 -НЧ, и только при минимальных дозах последнего видна аддитивность или некоторая субаддитивность действия SiO_2 -НЧ. Тот или иной тип антагонизма (т.е. субаддитивность или противонаправленность действия) именно этой комбинации явно преобладает и по показателю десквамации канальцевого эпителия.

Вместе с тем, и по рассматриваемым морфометрическим показателям нефротоксичности тип бинарного комбинированного действия может на

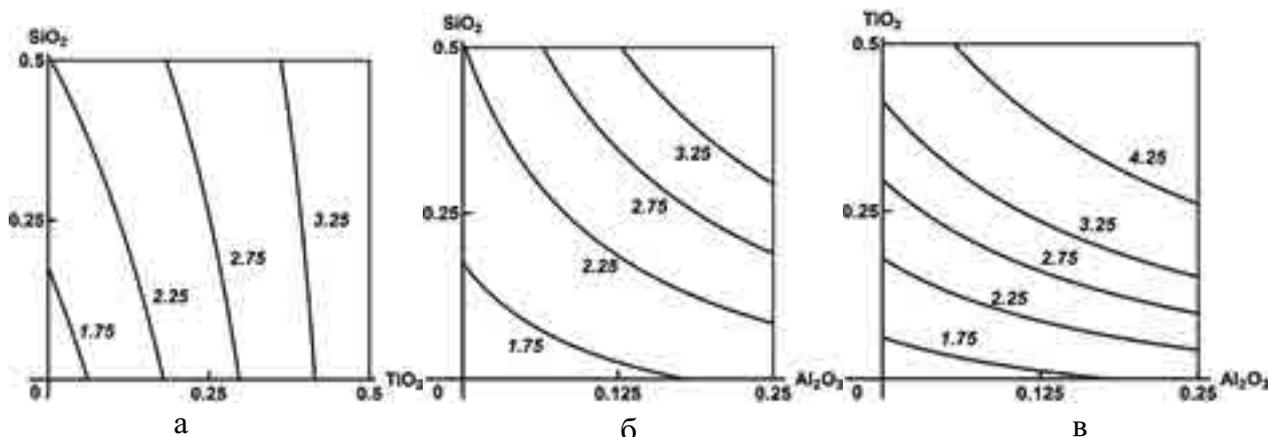


Рис. 5. Изоболограммы комбинированной субхронической токсичности, оцениваемой по потере щёточной каёмки эпителием почечных канальцев: (а) SiO_2 -НЧ + TiO_2 -НЧ (однофакторный эффект TiO_2 -НЧ с незначимой аддитивностью); (б) SiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ (аддитивность с тенденцией к синергизму); (в) TiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ (тот же тип действия). На осях дозы соответствующих MeO -НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в %)

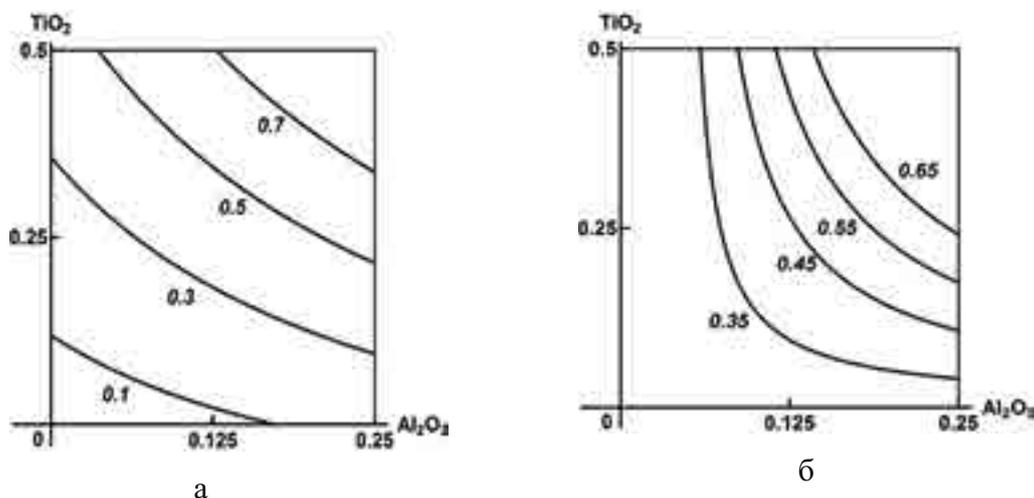


Рис. 6. Изоболограммы комбинированной субхронической токсичности Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ, оцениваемой по десквамации эпителия почечных канальцев: (а) аддитивность однонаправленного действия в отсутствии третьего MeO -НЧ, (б) супераддитивность – на фоне действия SiO_2 -НЧ (пример трёхфакторного действия, относимого к классу А). На осях дозы соответствующих MeO -НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в %)

фоне действия третьего члена комбинации более или менее существенно измениться, пример чего иллюстрируется рисунком 6.

На гистологических препаратах печени, как и во всех наших предыдущих субхронических экспериментах с MeO -НЧ без исключения, наблюдалась усиленная дегенерация гепатоцитов вплоть до увеличения доли клеток, потерявших ядро. Как видно из таблицы 2, этот количественный показатель был увеличен и во всех экспонированных группах настоящего эксперимента. Почти так же часто мы в прошлом сталкивались с уменьшением доли двуядерных гепатоцитов, свидетельствующим об угнетении репаративной пролиферации – этот эффект также наблюдается и в данном случае. Напротив, число клеток Купфера увеличено – хотя и не очень сильно, но во всех группах статистически значимо.

Сопоставление групп бинарной экспозиции с группами, подвергавшимся соответствующим двум изолированным, а также с группой полной тройной комбинации создает впечатление о субаддитивности как преобладающем типе комбинированной гепатотоксичности рассматриваемых MeO -НЧ, что в целом подтвердилось и при RSM-моделировании (рис. 7). Отметим также, что уменьшение дозировки тройной комбинации вдвое ослабило гепатотоксический эффект только по прямому его морфометрическому показателю (а именно по числу безъядерных гепатоцитов).

Генотоксический эффект ранее изучавшихся нами наночастиц *in vivo* оценивался показателем «коэффициент фрагментации» (Кфр) в ПДАФ-тесте на геномной ДНК, выделявшейся из клеток различных органов и тканей. В ряде ис-

Морфометрические показатели состояния печёночных долек у крыс после субхронического воздействия Al_2O_3 -НЧ, TiO_2 -НЧ и SiO_2 -НЧ отдельно либо в комбинациях ($x \pm s.e.$)

Число клеток данного вида на 100	Группа, получавшая в/б MeO-НЧ									
	Конт-роль	Al_2O_3	TiO_2	SiO_2	$Al_2O_3 + TiO_2$	$Al_2O_3 + SiO_2$	$TiO_2 + SiO_2$	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в половинной дозировке	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в полных дозах	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в полных дозах на фоне БПК
Безъядерные гепатоциты	10,30 \pm 1,09	17,60 \pm 0,98*	41,27 \pm 1,36*	39,67 \pm 2,58*	29,45 \pm 1,47*	41,88 \pm 1,72*	41,90 \pm 1,48*	16,92 \pm 0,81**	31,85 \pm 1,74*	27,13 \pm 1,20**
Двухъядерные гепатоциты	6,65 \pm 0,83	5,67 \pm 0,55	4,13 \pm 0,47*	3,27 \pm 0,46*	5,13 \pm 0,46	3,13 \pm 0,37*	3,75 \pm 0,52*	5,00 \pm 0,33*	4,05 \pm 0,78*	3,35 \pm 0,32*
Клетки Купфера	14,28 \pm 0,45	18,07 \pm 0,62*	21,43 \pm 0,68*	21,03 \pm 0,62*	19,58 \pm 0,60*	18,80 \pm 0,72*	21,05 \pm 0,53*	20,58 \pm 0,48*	20,08 \pm 0,75*	18,58 \pm 0,53*

Примечание: значком * обозначено статистически значимое ($P < 0,05$ по t Стьюдента) отличие от соответствующего контрольного показателя; # - от показателя группы, получавшей тройную комбинацию в полной дозировке без БПК. Кроме того отличаются статистически значимо: (1) по всем показателям группа, подвергавшаяся воздействию Al_2O_3 -НЧ - от групп изолированного воздействия двух других MeO-НЧ; (2) по числу безъядерных гепатоцитов группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ) - от групп изолированного воздействия обоих компонентов; группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + SiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия Al_2O_3 -НЧ; группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия Al_2O_3 -НЧ; (3) по числу двухъядерных гепатоцитов группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + SiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия Al_2O_3 -НЧ; (4) по числу клеток Купфера группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия TiO_2 -НЧ; группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + SiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия SiO_2 -НЧ

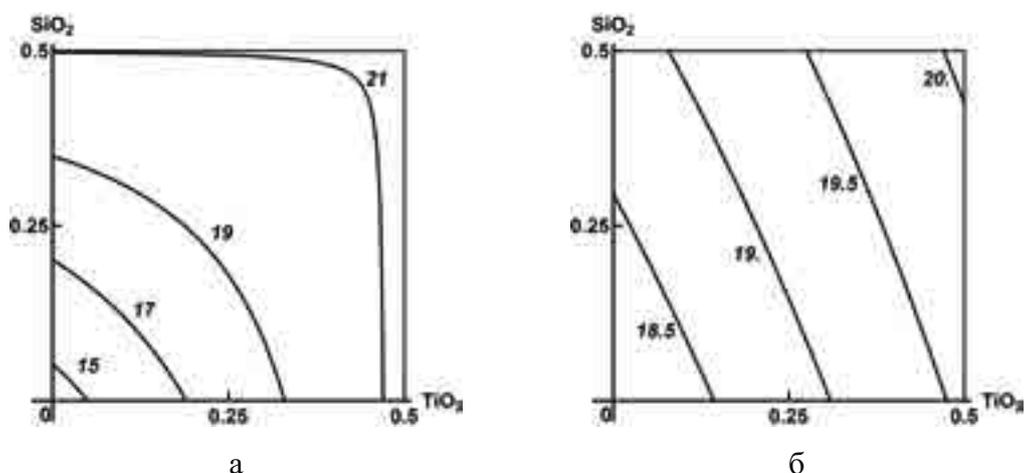


Рис. 7. Изоболограммы комбинированной субхронической токсичности SiO_2 -НЧ + TiO_2 -НЧ, оцениваемой по увеличению числа клеток Купфера: (а) субаддитивность однонаправленного действия в отсутствие третьего MeO-НЧ, (б) аддитивность - на фоне действия Al_2O_3 -НЧ (пример трёхфакторного действия, относимого к классу А). На осях дозы соответствующих MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффе́кта (%%)

Таблица 3

Повышение коэффициента фрагментации (Кфр) геномной ДНК в ПДАФ-тесте на ядродержащих клетках крови крыс после субхронического воздействия различных MeO-НЧ отдельно, в бинарных и тройной комбинациях ($x \pm s.e.$)

Воздействие	Кфр
Al ₂ O ₃ -НЧ	0,4470+0,0038 ^{*+x}
TiO ₂ -НЧ	0,4328+0,00548 [*]
SiO ₂ -НЧ	0,4288+0,0061 [*]
Al ₂ O ₃ -НЧ +TiO ₂ -НЧ	0,5416+0,0046 ^{*@}
Al ₂ O ₃ -НЧ +SiO ₂ -НЧ	0,4872+0,0041 ^{*x@}
TiO ₂ -НЧ+SiO ₂ -НЧ	0,4391+0,0061 ^{*+ x}
Al ₂ O ₃ -НЧ+TiO ₂ -НЧ+SiO ₂ -НЧ (половинные дозы)	0,4849+0,0068 ^{*+ x@}
Al ₂ O ₃ -НЧ +TiO ₂ -НЧ+SiO ₂ -НЧ (полные дозы)	0,6430+0,0189 ^{*+ x@}
Al ₂ O ₃ -НЧ +TiO ₂ -НЧ+SiO ₂ -НЧ (полные дозы) +БПК	0,4742+0,0067 ^{*+ x@}
БПК	0,4143+0,0047
Контроль	0,4023+0,0064

Примечание: Значками обозначены показатели, отличающиеся статистически значимо ($P < 0,05$ по t Стьюдента): * - от контрольного показателя, + - от показателя при воздействии TiO₂-НЧ, x - от показателя при воздействии SiO₂-НЧ, @ - от показателя при воздействии SiO₂-НЧ. Кроме того, статистически значимо различие между группами, получавшими тройную комбинацию MeO-НЧ в полной и в половинной дозировке, а также в полной дозировке и в такой же дозировке на фоне БПК

следований было найдено, что генотоксичность НЧ серебра и золота [3], оксидов марганца и никеля [6], оксидов меди, свинца и цинка [5, 9] является *полиорганичной*. При этом оказалось, что хотя степень повышения показателя Кфр может быть различной для разных органов, однако *сравнительная* генотоксичность разных НЧ, оцениваемая для всех органов, как правило, однозначна. Поэтому в дальнейших исследованиях мы сочли возможным ограничиться ПДАФ-тестированием одного рода клеток целостного организма, а именно ядродержащих клеток циркулирующей крови.

Судя по этому тесту, все три MeO-НЧ дали статистически значимый дозозависимый генотоксический эффект (Табл. 3). При этом сравнительная генотоксичность изученных наночастиц убывает в последовательности Al₂O₃-НЧ >> TiO₂-НЧ ≥ SiO₂-НЧ. (Ещё раз отметим, что более высокий эффект действия Al₂O₃-НЧ по сравнению с SiO₂-НЧ и TiO₂-НЧ особо существенен, принимая во внимание, что дозировка первого была вдвое меньшей.) Изоболограммы RSM-модели, которые мы не приводим

ввиду ограниченного объёма статьи, показали, что для пары (SiO₂-НЧ + TiO₂-НЧ) по всей области доз и ответов действительно выявлена субаддитивность, а для пары (TiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ) – несомненная супераддитивность, которая для пары (SiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ) выступает лишь как едва заметное (и статистически незначимое) отклонение от аддитивности. При этом сопоставление изоболограмм для той или иной бинарной комбинации в отсутствии или в присутствии третьего фактора свидетельствует о том, что если в качестве этого фоновго фактора рассматривается Al₂O₃-НЧ, то явная субаддитивность действия двух остальных переходит в аддитивность с тенденцией к супераддитивности, то есть в тип комбинированного действия, более неблагоприятный для организма (класс А). Если же третьим фактором является TiO₂-НЧ, то генотоксичность комбинации (SiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ), являющаяся без этого фактора строго аддитивной, приближается к однофакторной, определяемой в основном дозой Al₂O₃-НЧ, что менее неблагоприятно (класс В). Наконец, добавление SiO₂-

НЧ к комбинации (TiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ) фактически не изменила супераддитивный тип её действия (класс С). Особо отметим, что фрагментация ДНК была на фоне приёма БПК ослаблена даже в большей степени, чем при уменьшении вдвое действующей дозы трёх MeO -НЧ.

Заключение. Субхроническая интоксикация, развившаяся под влиянием MeO -НЧ, изученных в настоящем исследовании, характеризовалась относительно малым числом сдвигов функциональных и биохимических интегральных показателей. Вместе с тем, морфометрические показатели токсического повреждения почек и печени свидетельствуют о несомненной органо-токсичности всех изученных MeO -НЧ, качественно однотипной, но выраженной неодинаково сильно. В полном соответствии с ранее накопленными данными по другим MeO -НЧ, ПДАФ-тест выявил, что при изученных нано-интоксикациях имеет место усиленная фрагментация геномной

ДНК. По большей части всех этих неблагоприятных эффектов наночастицы оксида алюминия оказались наиболее активными.

В том, что касается типологии комбинированной токсичности, наши новые результаты также в принципе сходны с ранее полученными не только для других MeO -НЧ, но и для метал-ионов, подтверждая её неоднозначность для одной и той же пары действующих токсикантов в зависимости от соотношения доз, от конкретного эффекта, по которому эта токсичность оценивается, а нередко и от выраженности такого эффекта. С методической точки зрения, получено новое подтверждение того, что Response Surface Methodology является адекватным способом математического моделирования комбинированной токсичности.

Многие неблагоприятные эффекты действия комбинации [Al_2O_3 -НЧ+ TiO_2 -НЧ+ SiO_2 -НЧ], включая её генотоксичность, были существенно ослаблены пероральным назначением комплекса безвредных биопротекторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

1. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigalieva I.A. Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe_3O_4 (magnetite) nanoparticles. *Cent Eur J Occup Environ Med.* 2010; 16: 47-63.
2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Khodos M.Y., Shur V.Y., Shishkina E.V., et al. Uptake of some metallic nanoparticles by, and their impact on pulmonary macrophages in vivo as viewed by optical, atomic force, and transmission electron microscopy. *J Nanomed Nanotechnol.* 2012; 3: 1-8.
3. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O. H., Shur V.Ya., Beikin Y. B., et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 2449-2483.
4. Кацнельсон Б.А., Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Шур В.Я., и др. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и ее ослабление биопротекторной премедикацией. *Токсикологический вестник.* 2014; 6: 8-14. /Katsnelson B.A., Minigalieva I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V. Ya., et al. Lower airways response in rats to a single or combined intratracheal instillation of manganese and nickel nanoparticles and its attenuation with a bio-protective pre-treatment. *Toksikol Vestnik.* 2014; 6: 8-14 (in Russian).
5. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E., et al. Subchronic Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles and Its Attenuation with the Help of a Combination of Bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2014; 15: 12379-12406.
6. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Y., et al. 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): 22555-22583.
7. Katsnelson B.A., Minigalieva I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *J Food Chem Toxicol.* 2015; 86: 351-364.
8. Sutunkova M.P., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Konyshova L.K., Shur V.Ya., et al. On the contribution of the phagocytosis and the solubilization to the iron oxide nanoparticles retention in and elimination from lungs under long-term inhalation exposure. *J Toxicol.* 2016; 363: 19-28.
9. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., et al. 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.
10. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigalieva I.A., Gurvich V.B., Shur V.Y., et al. Experimental research into metallic and metal oxide nanoparticle toxicity in vivo. In: B. Yan, H. Zhou, J. Gardea-Torresdey (Eds.). "Bioactivity of Engineered Nanoparticles", Springer; 2017; Chapter 11: 259-319.
11. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Varaksin A.N., Gurvich V.B., Privalova L.I., et al. Experimental study and mathematical modeling of toxic metals combined action as a scientific foundation for occupational and environmental health risk assessment. A summary of results obtained by the Ekaterinburg research team (Russia). *Toxicol Rep.* 2017; 4C: 194-201.
12. Минигалиева И.А. Некоторые закономерности комбинированной токсичности металлооксидных наночастиц. *Токсикологический Вестник.* 2016; 6: 18-24. / Minigalieva I.A. Some regularities of metal oxide NPs combined toxicity. *Toksikol Vestnik.* 2014; 6: 8-14 (in Russian).
13. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., et al. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. *Food Chem Toxicol.* 2014; 64: 144-156.
14. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigalieva I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.
15. Bermudez E., Mangum J.B., Wong B.A., Asgharian B., Hext P.M., Warheit D.B., et al. Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol Sci.* 2004; 77(2): 347-57.
16. Grassian V.H., O'Shaughnessy P.T., Adamcakova-Dodd A., Pettibone J.M., Thorne P.S. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115: 397-402.
17. Park E.-J., Yoon J., Choi K., Yi J., Park K. Induction of chronic inflammation in mice treated with titanium dioxide nanoparticles by intratracheal instillation. *Toxicology.* 2009; 260: 37-46.
18. Iavicoli I., Leso V., Fontana L., Bergamaschi A. Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: a review of in vitro mammalian studies. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2011; 15: 481-508.
19. Husain M., Saber A.T., Guo C., Jacobsen N.R., Jensen K.A., Yauk C.L., et al. Pulmonary instillation of low doses of titanium dioxide nanoparticles in mice leads to particle retention and gene expression changes in the absence of inflammation. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2013; 269: 250-262.
20. Shakeel M., Jabeen F., Iqbal R., Chaudhry A.S., Zafar S., Ali M., et al. Assessment of titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 -NPs) induced hepatotoxicity and ameliorative effects of Cinnamomum cassia in Sprague-Dawley rats. *Biological Trace Element Research.* 2017; 1-13
21. Kreyling W.G., Holzwarth U., Haberl N., Kozempel J., Hirn S., Wenk A., et al. Quantitative Biokinetics of Titanium Dioxide Nanoparticles After Intravenous Injection in Rats: Part 1. *Nanotoxicology.* 2017; 11(4): 434-442.
22. Park E.J., Park K. Oxidative stress and pro-inflammatory responses induced by silica nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicol. Lett.* 2009; 184 (1): 18-25.
23. Eom H.J., Choi J. Oxidative stress of silica nanoparticles in human bronchial epithelial cell, Beas-2B. *Toxicol. In Vitro.* 2009; 2 (7): 1326-1332.
24. Kim Y.J., Yu M., Park H.O., Yang S.I. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by silica nanomaterials in human neuronal cell line. *Mol. Cell. Toxicol.* 2010; 6(4): 336-343.
25. Sergent J.A., Paget V., Chevillard S. Toxicity and genotoxicity of nano-SiO₂ on human epithelial intestinal HT-29 cell line. *Ann. Occup. Hyg.* 2012; 56(5): 622-630.
26. Tetsuka E., Shimizu Y., Teruya K., Myojin-Maekawa Y., Shimamoto F., Watanabe H., et al. Liver injury induced by 30- and 50-nm-diameter silica nanoparticles. *J-STAGE.* 2012; 36(3): 370-375.
27. Petrick L., Rosenblatt M., Paland N., Aviram M. Silicon dioxide nanoparticles increase macrophage atherogenicity: stimulation of cellular cytotoxicity,

oxidative stress, and triglycerides accumulation. *Environ. Toxicol.* 2016; 31(6): 713-723.

28. Ren L., Zhang J., Zou Y., Zhang L., Wei J., Shi Z., et al. Silica nanoparticles induce reversible damage of spermatogenic cells via RIPK1 signal pathways in C57 mice. *Int. J. Nanomedicine.* 2016; 11: 2251-2264.
29. Murugadoss S., Lison D., Godderis L., Van Den Brule S., Mast J., Brassinne F., et al. Toxicology of silica nanoparticles: an update. *Arch. Toxicol.* 2017; 91(9): 2967-3010.
30. Sutunkova M.P., Solovyeva S.N.,

Katsnelson B.A., Gurvich V.B., Privalova L.I., Minigalieva I.A., et al. A paradoxical response of the rat organism to long-term inhalation of silica containing submicron (predominantly nanoscale) particles of a collected industrial aerosol at realistic exposure levels. *Toxicology.* 2017; 384: 59-68.

31. Arul Prakash F., Dushendra Babu G.J., Lavanya M., Shenbaga Vidhya K., Devasena T. Toxicity Studies of Aluminium Oxide Nanoparticles in Cell Lines. *International Journal of Nanotechnology and Applications.* 2011; 5(2): 99-107.

32. Radziun E., Dudkiewicz Wilczyńska J., Książek I., Nowak K., Anuszewska E.L., Kunicki A., et al. Assessment of the cytotoxicity of aluminum oxide nanoparticles on selected mammalian cells. *Toxicol. In Vitro.* 2011; 25(8): 1694-700.

33. Park E.J., Lee G.H., Yoon C., Jeong U., Kim Y., Cho M.H., et al. Biodistribution and toxicity of spherical aluminum oxide nanoparticles. *J. Appl. Toxicol.* 2016; 36(3): 424-33.

34. Panov V.G., Varaksin A.N., Minigalieva I.A., Katsnelson B.A. The Response Surface Methodology as an

approach of choice to modeling and analyzing combined toxicity: theoretical premises, the most important inferences, experimental justification. *Biom. Biostat. J.* 2017; 1(1): 112-124.

35. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigalieva I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three-factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.

I.A. Minigalieva¹, B.A. Katsnelson¹, L.I. Privalova¹, M.P. Sutunkova¹, V.B. Gurvich¹, V.Y. Shur², E.V. Shishkina², I.E. Valamina³, O.G. Makeyev³, V.G. Panov⁴, A.N. Varaksin⁴, S.V. Klinova¹, S.V. Solovyeva¹, E.Y. Meshcheryakova³

COMPARATIVE AND COMBINED TOXICITY OF ALUMINIUM, TITANIUM AND SILICON OXIDES NANOPARTICLES AND ITS ALLEVIATION WITH THE COMPLEX OF BIOPROTECTORS

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

²Ural Center for Shared Use «Modern nanotechnologies», Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, 620000, Ekaterinburg, Russian Federation

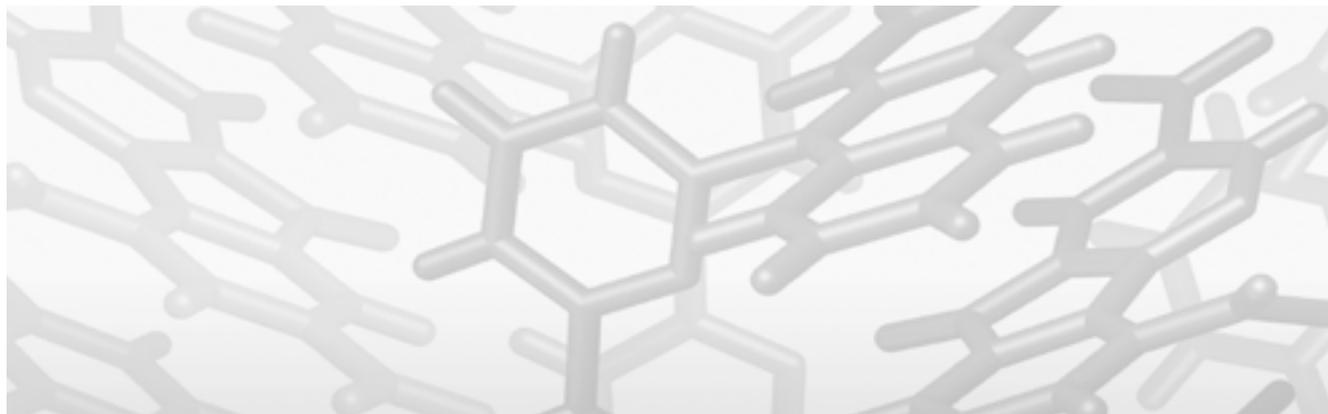
³The Central Research Laboratory, Ural State Medical University, 620109, Ekaterinburg, Russian Federation

⁴Institute of Industrial Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620990, Ekaterinburg, Russian Federation

Stable suspensions of metal/metalloid oxide nanoparticles (MeO-NPs) obtained by laser ablation of 99.99% pure elemental aluminum, titanium or silicon under a layer of deionized water were used separately or in different combinations to induce subchronic intoxications in rats. To this end, MeO-NPs had been repeatedly injected intraperitoneally (i.p.) 18 times during 6 weeks before a large number of functional, biochemical and morphometric indexes for the organism's status were measured. It was found that, in many respects, the Al₂O₃-NPs were the most toxic as such and the most dangerous component of the studied combinations. Mathematical modeling with the help of the Response Surface Methodology has shown that the response of the organism to a simultaneous exposure to any two of the MeO-NPs under study is characterized by all possible types of combined toxicity (additivity, subadditivity or superadditivity of unidirectional action and different variants of opposite effects) depending on which outcome this type is estimated for as well as on the levels of the effect and dose. With any third MeO-NP species acting in the background, the type of combined toxicity displayed by the other two can change significantly. Many adverse effects produced by the [Al₂O₃-NP+TiO₂-NP+SiO₂-NP]-combination, including its genotoxicity, were substantially attenuated by giving to rats per os during the entire exposure period complex of innocuous bioprotective substances.

Keywords: nanoparticles, subchronic effects, comparative and combined toxicity, bioprotectors.

Материал поступил в редакцию 15.01.2018 г.



УДК 57.04 :575.1

ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ОРГАНИЗМЫ: БЕЗОПАСНОСТЬ И ОБЩЕСТВЕННОЕ МНЕНИЕ*

А.Г. Кирова, М.М. Крыласова,
Н.И. Шеина

ФГБОУ ВО «Российский национальный
исследовательский медицинский
университет им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России, 117997,
г. Москва, Российская Федерация

Обсуждаются вопросы безопасности использования ГМО в пищевых целях и общественного мнения о проблеме. Показано, что осведомленность респондентов о ГМО возросла с 2011г. по 2016 г. Однако респонденты среднего и пожилого возраста относятся с осторожностью к содержанию их в продуктах питания.

Ключевые слова: ГМО, оценка безопасности, общественное мнение.

Введение. Генетически модифицированные организмы (ГМО) и продукты из них стали одним из значительных достижений биологии XX века. Еще ни одна новая технология не была объектом столь пристального внимания ученых всего мира. Проблема генетически модифицированных продуктов является актуальной в связи с тем, что экономические интересы многих стран приходят в противоречие с основными правами человека [1,2].

Известно, что путем генной инженерии возможно создание трансгенных растений, которое многократно ускоряет процесс селекции культурных растений, увеличивает урожайность (на 40-50%), удешевляет продукты питания и позволяет получать растения с такими свойствами, которые не могут быть получены традиционными методами (устойчивость к неблагоприятным климатическим условиям, токсичность для некоторых видов вредителей-насекомых и т.д.). Все указанное позволяет более эффективно решать целый комплекс агротехнических и продовольственных проблем на фоне высоких темпов роста населения в мире [3,4].

Генетически модифицированные продукты являются большим и перспективным бизнесом. В мире около 60 миллионов гектаров занято под выращивание трансгенных растений, их выращивают в США, Канаде, Франции, Китае, Южной Африке, Аргентине. Так, в США сегодня на трансгенные сорта растений приходится 62%

сои и 78% хлопчатника. В нашей стране давно ведутся исследования по генной инженерии растений, однако выращивание генетически измененных культур можно встретить только на экспериментальных полях.

Генетически модифицированные продукты, в основном, ввозятся в Россию, а также в слабо развитые страны в качестве гуманитарной помощи. В настоящее время 90% экспорта трансгенных пищевых продуктов составляют соя, кукуруза, горох, картофель. Чтобы получить право на ввоз, производство и реализацию продукции, содержащей генетически модифицированные источники, необходимо пройти гигиеническую экспертизу и государственную регистрацию. Процедура является платной, и немногие организации готовы тратить на это дополнительные средства.

В 2002 г. Минздрав РФ ввел обязательную маркировку продуктов, содержащих более 5% генетически модифицированного источника. Результаты проверок показали, что в Москве 37,8% продуктов, содержащие генетическое модифицированное сырье, не имеют соответствующей маркировки.

Мнения ученых о безопасности генетически модифицированных источников питания расходятся. Так, в опытах Ермаковой И. наблюдался ряд патологических изменений у крыс, получавших рацион, в который входили ГМО [5]. Вместе с тем в настоящее время нет ни одного

Кирова Анастасия Григорьевна (Kirova Anastasija Grigor'evna), студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, nast.kirova@yandex.ru

Крыласова Мария Михайловна (Krylasova Marija Mihajlovna), студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Isie@mail.ru

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natal'ja Ivanovna), д.б.н., профессор, профессор кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, ni_sheina@mail.ru

* Тематика статьи разрабатывалась и обсуждалась на заседаниях студенческого научного кружка кафедры гигиены РНИМУ имени Н.И.Пирогова.

убедительного научного факта против использования трансгенных продуктов [6-9].

Сторонники употребления генетически модифицированных продуктов считают, что они безвредны для человека и даже имеют преимущества. По мнению академика К.Г. Скрябина, вопрос безопасности генно модифицированных продуктов не существует, поскольку они проходят достаточно жесткий контроль. Учеными ФИЦ питания и биотехнологии были проведены комплексные исследования медико-биологической оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных кукурузы линии MON 88017 и линии MIR604, а также сои линии MON 89788. Анализ данных, полученных при изучении интегральных, морфологических, гематологических, биохимических показателей, не выявил какого-либо токсического действия ГМ-кукурузы и ГМ-сое по сравнению с ее традиционным аналогом [10-12]. Анализ данных, полученных при изучении уровня повреждений ДНК и хромосомных aberrаций, тяжести активного анафилактического шока и интенсивности гуморального иммунного ответа, состояния гуморального и клеточного звеньев иммунитета, не выявил также ни генотоксического, ни аллергенного, ни иммуномодулирующего или сенсибилизирующего действия этих ГМ-культур по сравнению с их традиционными аналогами [13-15]. А при изучении репродуктивной токсичности ГМ-кукурузы Либерти Линк® на 3 поколениях крыс не выявлено негативного влияния ее на репродуктивную функцию экспериментальных животных и развитие потомства [16].

Цель исследования – ретроспективный анализ общественного мнения о безопасности использования генномодифицированных продуктов в связи с недостаточным изучением их влияния на здоровье человека и неоднозначностью результатов исследования.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено методом анкетирования различных возрастных групп населения в 2011г. (150 чел.) и 2016 г. (150 чел.). Общее количество опрошенных – 300 человек. Анкета была составлена самими авторами с учетом анализа данных литературы. Когорта респондентов состояла из 50 человек молодого возраста (студенты медицинского университета, 18-23 года), 50 человек среднего (45-59 лет) и 50 пожилого (60-74 года) возраста (ВОЗ, 2016). Анкетирование респондентов среднего и пожилого возраста проводилось возле гипермаркета Ашан, Марфино. Участники были ознакомлены с условиями проведения анкетирования и добровольно приняли в нем участие.

Первичный анализ результатов анкетирования в 2011г. позволил представить характе-

ристику полученной выборки опрашиваемых. Все респонденты проживали в Москве и ближайшем к магазину Подмоскowie, основу выборки составляли женщины (80%). Когорту людей среднего возраста составляли служащие (менеджеры, преподаватели, административные работники и др.) с высшим образованием (75%) и работники (медсестры, водители, продавцы и т.д.) со средним или средним специальным образованием (25%). В группе людей пожилого возраста было больше людей со средним образованием (31%) и меньше опрашиваемых с высшим образованием (69%). Для ретроспективной оценки результатов опроса выборка респондентов в 2016 г. была сравнима с выборкой 2011 г.: в группе людей среднего возраста 78% респондентов были с высшим образованием, а в группе опрашиваемых пожилого возраста – 71%.

Проведен также анализ ассортимента продуктов, потенциально содержащих ГМО, на основе учета данных маркировки на пищевых изделиях, продаваемых в магазинах торговой сети Ашан. В каждой группе продуктов – консервы (горох, кукуруза, фасоль), молочные продукты (молоко, сметана, творог), хлебобулочные изделия (батоны, булочки, баранки, бублики), кондитерские изделия (конфеты, шоколад), детское питание (молочные и фруктовые смеси, каши) – исследовали по 25-30 наименований различных компаний и производств.

Результаты и обсуждение. При сравнении результатов анкетирования в 2011 г. и 2016 г., представленных в таблице 1, можно отметить, что осведомленность населения о генно модифицированных организмах и продуктах из них постепенно возрастает, что, по-видимому, связано с более широким освещением данной проблемы в процессе обучения в школе, высших учебных заведениях и прессе. Положительное отношение к ГМО в обществе растет (в 2.5 раза), но и негативное отношение также имеет тенденцию к росту.

Что касается маркировки на пищевых продуктах, то основная часть респондентов только иногда обращает внимание на состав приобретаемого продукта. Наряду с этим несколько возрастает количество респондентов, которые всегда обращают внимание на состав покупаемых продуктов.

Сравнительный анализ результатов анкетирования населения в 2011 г. и 2016 г. позволил выявить сходные тенденции в формировании общественного мнения в отношении ГМО. Так, осведомленность о ГМО и понимание сути проблемы среди населения высока: среди молодежи составляет 100%, среди людей среднего и пожилого возраста – 55 и 52% (табл.2).

Таблица 1

Результаты анкетирования респондентов (%) в 2011 г. и 2016 г.

Вопрос анкеты	2011 г.	2016 г.
1.Слышали или знают о ГМО	78	91
2.Отношение к ГМО:		
- положительное	8	20
- нейтральное	48	30
- отрицательное	44	50
3. Обращали на состав продуктов:		
- всегда	15	21
- время от времени	63	49
- никогда	22	30

Таблица 2

Результаты анкетирования различных слоев населения о ГМО в 2016 г.

Вопрос	Студенты, %	Лица среднего возраста, %	Лица пожилого возраста, %
1.Слышали о ГМО			
-да	100	55	52
-нет	-	45	48
2.Смогли дать определение ГМО			
-да	52	49	47
-нет	48	51	53
3.Отношение к ГМО:			
- положительное	25	19	12
- нейтральное	34	23	26
- отрицательное	41	58	62
4. Обращали на состав продуктов:			
- всегда	17	25	24
- время от времени	53	44	45
- никогда	30	31	31
5. Поддержали ли бы возможную инициативу увеличения площадей под ГМР в России:			
-да	26	15	7
-нет	74	85	93

Несмотря на это, большинство респондентов всех опрошенных групп населения относятся к ГМО отрицательно. Пожилые респонденты лидируют в этом вопросе: отрицательно настроены 62% респондентов, нейтрально – 26% и положительно – 12%. Среди респондентов среднего возраста: отрицательно – 58, нейтрально – 23%, положительно – 19% респондентов. Среди студентов относится отрицательно 41%, нейтрально – 34%, положительно – 25% респондентов (табл.2).

Большинство респондентов (44-53%) вне зависимости от возраста обращает внимание на состав продуктов только время от времени, т.е.

иногда. Около 30% респондентов никогда не обращает внимания на маркировку при покупке продуктов, и только 17-25% респондентов всегда читают маркировку на упаковках продуктов. Таким образом, респонденты среднего и пожилого возраста более внимательны к выбору продуктов и не хотят употреблять в пищу потенциально опасные продукты.

На вопрос, поддержали ли бы респонденты возможную инициативу по увеличению площадей высева ГМ-культур в России, большинство (74-93%) ответило отрицательно. Указанный факт полностью согласуется с вышедшим впоследствии Федеральным законом №358-ФЗ,

Таблица 3

**Анализ продуктов питания на потенциальное содержание в них ГМО
(по маркировкам на упаковках)**

Наименование продукта	2011 г.		2016 г.	
	Потенциально содержат ГМО, %	Без ГМО, %	Потенциально содержат ГМО, %	Без ГМО, %
Консервы	52	48	77	23
Молочные продукты	78	22	62	38
Хлебобулочные изделия	82	18	66	34
Кондитерские изделия	94	6	76	24
Детское питание	81	19	78	22

который запрещает выращивание растений и разведение животных, полученных с использованием методов геной инженерии. Согласились с возможной инициативой только 26% студентов, 15% лиц среднего и 7% пожилого возраста.

Был проанализирован состав консервов, хлебобулочных изделий, кондитерских изделий, молочных продуктов, а также детского питания по маркировкам пищевых продуктов, которые представлены в таблице 3.

Маркировка «Без ГМО» на упаковке позволяла отнести исследуемый продукт к группе продуктов без ГМО. Наличие в составе ингредиентов, таких как соевый лецитин, кукурузный крахмал с большой долей вероятности содержащих ГМО, относили к группе продуктов, потенциально содержащих ГМО.

Результаты исследования показали, что согласно маркировке подавляющая часть продуктов может содержать ГМО. В 2011 г. указанное в большей мере относилось к хлебобулочным (82%) и кондитерским (94%) изделиям. Однако к 2016 г. наметилась существенная тенденция снижения потенциального содержания ГМО в продуктах, таких как молочные, хлебобулочные и кондитерские изделия. К сожалению, снижение потенциального содержания ГМО в составе детского питания незначительно.

Можно предполагать, что отмеченные тенденции снижения потенциального содержания ГМО в продуктах связаны с санкциями зарубежных стран против России и ограничением импорта пищевой продукции в нашу страну.

Сложившаяся ситуация привела к необходимости формирования новых подходов к оценке безопасности и процедуры государственной

регистрации ГМО в Российской Федерации, позволяющими расширить перечень ГМО растительного происхождения, присутствие которых в продуктах питания можно определить количественно. Одним из приоритетных направлений развития методологии оценки безопасности ГМО является ее стандартизация и унификация [17].

На основании анализа отечественного и международного опыта были разработаны требования к оценке безопасности ГМО, соответствующие принципам регулирования использования ГМО для пищевых целей [18,19].

Действующая в настоящее время в Российской Федерации система оценки безопасности, проводимой на этапе государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения, является одной из самых строгих в мире и включает проведение большого числа исследований *in vivo*.

Оценка безопасности включает экспертный анализ и оценку представленных заявителем данных, содержащих сравнение химического состава ГМО и его традиционного аналога (композиционная эквивалентность), результаты токсикологических, аллергологических и других исследований, результаты пострегистрационного мониторинга в стране-заявителе и других странах. Выделяются следующие этапы:

- анализ таксономической и генетической информации, представляемой заявителем (информация, позволяющая идентифицировать ГМО, информация об исходном организме, об организмах-донорах вносимых генов, о методах генетических модификаций и способах получения ГМО и исходных ГМ-линий; информация

о ГМО и исходных ГМ-линиях, о потенциально возможном взаимодействии встроенных генетических элементов и белков-продуктов генов, а также результатах их взаимодействия и др.).

– экспертная оценка методов обнаружения, идентификации и количественного определения ГМО и проверка присутствия всех заявленных генетических конструкций методом ПЦР

– оценка функционально-технологических свойств ГМО в сравнении со свойствами его традиционного аналога (сравнительная органолептическая оценка; сравнительная характеристика реологических свойств исследуемого продукта и/или его отдельных фракций; сравнительная оценка физико-химических свойств исследуемого продукта и/или его отдельных фракций).

– медико-биологическая оценка безопасности ГМО иммуномодулирующих и сенсибилизирующих свойств, исследование репродуктивной и общей токсичности в эксперименте.

Таким образом, в нашей стране принята стройная и логичная система оценки безопасности продукции, содержащей ГМО, всесторонне оценивающей возможные негативные проявления и позволяющей прогнозировать вероятные риски для здоровья населения, связанные с потреблением ГМ продукции.

Заключение. Для окончательного ответа на вопрос о пользе и вреде ГМО нужны длительные генетические, экологические и медицинские исследования, причем экспертиза должна быть независимой. Вместе с тем есть основания полагать, что ГМО помогут решению продовольственной проблемы, что будет возможно при постоянном диалоге биотехнологов с экологами и медиками.

Сегодня после долгих дискуссий сторонников и противников трансгенных продуктов было принято «соломоново» решение о том, что человек должен выбрать сам, согласен ли он употреблять генетически модифицированную пищу или нет. Многие страны, в том числе и Россия, требуют как минимум обязательной маркировки продуктов, полученных из ГМО, что позволит гражданам, опасющимся неблагоприятных последствий использования ГМО, не приобретать их.

Выводы:

1. Количество респондентов, наслышанных о ГМО и, что особенно важно, четко понимающих суть этого явления, за 5 лет выросло, особенно среди молодежи. Среди студентов прослеживается тенденция к положительной оценке ГМО, в то время как респонденты среднего и пожилого возраста, в основном, придерживаются отрицательной позиции.

2. Выросло количество людей, регулярно контролирующих наличие или отсутствие ГМ-составляющих в составе продукта, особенно среди респондентов среднего и пожилого возраста.

3. Только относительно небольшую часть продуктов в 2016 г. можно с уверенностью отнести к категории не содержащих ГМО, вместе с тем их количество существенно выросло по сравнению с 2011 г.

4. Большинство респондентов вне зависимости от возраста не поддерживает возможную инициативу о расширении площадей растительных ГМ-культур в России, что лежит в русле утвержденного 03.07.2016 г. Федерального закона №358-ФЗ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ермишин А.П. ГМО. Мифы и реальность. Минск: Техналогия, 2004; 235с.
2. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Курс лекций по устойчивому развитию. М.: Тайденс КО, 2005; 122-24
3. Свердлов Е.А. Что может генная инженерия. Здоровье. 2004; 1: 51-4
4. Чечилова С.П. Трансгенная пища. Здоровье. 2004; 6: 20-5
5. Ertaikova I. Influence of genetically modified soya on the birth-weight and survival of rat pups. Proceedings «Epigenetics, Transgenic Plants and Risk Assessment». 2006; 41-8.
6. Вельхов В.В. Опасны ли опыты с рекомбинантными ДНК. Природа. 2003; 4: 18-26
7. Красовский О.А. Генетически модифицированная пища: возможности и риски. Человек. 2002; 5: 158-64
8. Кузнецов В.В., Куликов А.М. Генетически модифицированные организмы и полученные из них продукты: реальные и потенциальные риски. Российский химический журнал. 2005; XLIX (4): 70-83
9. Поморцев А. И. Мутации и мутанты. Факел. 2003; 1: 12-5
10. Тутельян В.А., Гаппаров М.М.Г., Авреньева Л.И., Аксюк И.Н., Гусева Г.В., Кравченко Л.В. и др. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной кукурузы линии MON 880 Сообщение Токсиколого-гигиенические исследования. Вопросы питания. 2008; 5: 4-13
11. Тутельян В.А., Гаппаров М.Г., Авреньева Л.И., Аксюк И.Н., Гусева Г.В., Кравченко Л.В. и др. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной кукурузы линии MIR6 Сообщение Токсиколого-гигиенические исследования. Вопросы питания. 2009; 2: 24-33
12. Тутельян В.А., Гаппаров М.Г., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Жминченко В.М., Кравченко Л.В. и др. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной сои линии MON 89788. Сообщение Токсиколого-гигиенические исследования. Вопросы питания. 2010; 3: 4-13
13. Тышко Н.В., Брицина М.В., Гмошинский И.В., Жанатаев А.К., Захарова Н.С., Зорин С.Н. и др. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной кукурузы линии MON 880 Сообщение Генотоксикологические, иммунологические и аллергологические исследования. Вопросы питания. 2008; 5: 13-8
14. Тышко Н.В., Брицина М.В., Гмошинский И.В., Жанатаев А.К., Захарова Н.С., Зорин С.Н. и др. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной кукурузы линии MIR-6 Сообщение Генотоксикологические, иммунологические и аллергологические исследования. Вопросы питания. 2009; 2: 33-9
15. Тышко Н.В., Брицина М.В., Гмошинский И.В., Захарова Н.С., Зорин С.Н., Мазо В.К. и др. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированной сои линии MON 897 Сообщение Генотоксикологические, иммунологические и аллергологические исследования. Вопросы питания. 2010; 3: 13-8
16. Тышко Н.В., Жминченко В.М., Пашорина В.А., Селяскин К.Е., Сапрыкин В.П., Утембаева Н.Т. и др. Оценка влияния ГМО растительного происхождения на развитие потомства крыс в трех поколениях. Вопросы питания. 2011; 1: 14-29
17. Тышко Н.В., Садыкова Э.О., Тимонин А.Н., Шестакова С.И., Никитин Н.С., Трубх М.Д. и др. Разработка многоуровневой экспериментальной модели in vivo для оценки безопасности ГМО, полученных с использованием новых биотехнологий. Вопросы питания. 2016; 85(2): 172 (приложение).
18. Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения с комбинированными признаками. Методические указания. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2016; 27с.
19. Методы идентификации и количественного определения новых линий ГМО 2-го поколения в пищевых продуктах. Методические указания. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2015; 13с.

REFERENCES:

1. Ermishin A.P. GMOs. Myths and Reality. Minsk Tehnologiya, 2004; 235p. (in Russian)
2. Mirkin B.M., Naumova L.G. Course of lectures on Sustainable Development Course. M.: Taydeks KO, 2005; 122-24 (in Russian)
3. Sverdlov E.A. What is genetic engineering. Health. 2004; 1: 51-4 (in Russian)
4. Chechilova S.P. Transgenic food. Health. 2004; 6: 20-5 (in Russian)
5. Ermakova I. Influence of genetically modified soya on the birth-weight and survival of rat pups. Proceedings «Epigenetics, Transgenic Plants and Risk Assessment». 2006; 41-
6. Vel'kov V.V. Do experiments with recombinant DNA are dangerous. Nature. 2003; 4: 18-26 (in Russian)
7. Krasovskij O.A. Genetically modified food: opportunities and risks. Man. 2002; 5: 158-164 (in Russian)
8. Kuznecov V.V., Kulikov A.M. Genetically modified organisms and products derived from them: the real and potential risks. Russian Chemical Journal. 2005; XLIX(4): 70-83 (in Russian)
9. Pomorcev A. I. Mutations and mutants. Torch. 2003; 1: 12-5 (in Russian)
10. Tutel'jan V.A., Gapparov M.G., Avren'eva L.I., Aksjuk I.N., Guseva G.V., Kravchenko L.V. e.a. Medico-biological assessment of the safety of genetically engineered maize line MON 880. Communication Toxicological and hygienic studies. Problems of nutrition. 2008; 5: 4-13 (in Russian)
11. Tutel'jan V.A., Gapparov M.M.G., Avren'eva L.I., Aksjuk I.N., Guseva G.V., Kravchenko L.V. e.a. Medico-biological assessment of safety of genetically engineered corn of the MIR604 line. Communication Toxicological and hygienic research. Problems of nutrition. 2009; 2: 24-33 (in Russian)
12. Tutel'jan V.A., Gapparov M.G., Avren'eva L.I., Guseva G.V., Zhminchenko V.M., Kravchenko L.V. e.a. Medico-biological assessment of safety of genetically engineered modified soya line MON 89788. Communication Toxicological and hygienic research. Problems of nutrition. 2010; 3: 4-13 (in Russian)
13. Tyshko N.V., Bricina M.V., Gmoshinskij I.V., Zhanataev A.K., Zaharova N.S., Zorin S.N. e.a. Medico-biological assessment of the safety of genetically engineered maize line MON 880. Report Genotoxicological, immunological and allergological studies. Problems of nutrition. 2008; 5: 13-8 (in Russian)
14. Tyshko N.V., Bricina M.V., Gmoshinskij I.V., Zhanataev A.K., Zaharova N.S., Zorin S.N. e.a. Medico-biological assessment of safety of genetically engineered corn of the MIR604 line. Report Genotoxicological, immunological and allergological studies. Problems of nutrition. 2009; 2: 33-9 (in Russian)
15. Tyshko N.V., Bricina M.V., Gmoshinskij I.V., Zaharova N.S., Zorin S.N., Mazo V.K. e.a. Medico-biological assessment of safety of genetically engineered modified soya line MON 897. Communication Genotoxicological, immunological and allergological studies. Problems of nutrition. 2010; 3: 13-8 (in Russian)
16. Tyshko N.V., Zhminchenko V.M., Pashorina V.A., Seljaskin K.E., Saprykin V.P., Utembaeva N.T. e.a. Evaluation of the effect of GMOs of plant origin on the development of offspring of rats in three generations. Problems of nutrition. 2011; 1: 14-29 (in Russian)
17. Tyshko N.V., Sadykova Je.O., Timonin A.N., Shestakova S.I., Nikitin N.S., Trebuh M.D. e.a. Development of a multilevel experimental model in vivo to assess the safety of GMOs obtained using new biotechnologies. Problems of nutrition. 2016; 85(2): 172 (annex). (in Russian)
18. Medico-biological safety assessment of genetically modified organisms of plant origin with the combined attributes. Guidelines M.: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare. 2016; 27p. (in Russian)
19. Methods of identification and quantification of new GMO lines 2nd generation in food. Guidelines. M.: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare. 2015; 13p. (in Russian)

A.G. Kirova, M.M. Krylasova, N.I. Sheina

GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS: SAFETY AND PUBLIC OPINION

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

Safety in the use of GMO for food purposes and public opinion on the problem are discussed. It is shown that the awareness of respondents on GMO has increased since 2011 to 2016. However, middle-aged and elderly respondents treat with care their contents in food.

Keywords: *GMO, safety assessment, public opinion.*

Переработанный материал поступил в редакцию 9.01.2018 г.



ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 581.1; 582.232; 628.394

О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ *SCENEDESMUS QUADRICAUDA* (TURP.) BREB. В ПРИСУТСТВИИ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ МЕТАЛЛОВ

В.И. Ипатова¹,
А.Г. Дмитриева¹,
О.Ф. Филенко¹,
Т.В. Дрозденко²

¹Московский государственный
университет им. М.В. Ломоносова,
119991, г. Москва, Российская
Федерация

²ФГБОУ ВО Псковский
государственный университет,
180000, г. Псков, Российская
Федерация

Исследовали структуру лабораторной популяции зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. (= *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew.) на разных этапах ее развития (лаг-фазе, фазе логарифмического роста и стационарной фазе) при низких концентрациях хлорида меди и нитрата серебра методом микрокультур, позволяющего контролировать состояние и развитие одиночных клеток, имеющих разный физиологический статус. Ответная реакция культуры *S. quadricauda* – изменение численности клеток и фракционного состава (доля делящихся, покоящихся и отмирающих клеток) зависели не только от концентрации токсиканта в среде, но и от физиологического состояния культуры: уровня синхронизации и фазы роста. Ионы серебра в низких концентрациях оказали на культуру более выраженное токсическое действие, чем ионы меди на разных фазах ее развития, особенно при концентрации 0,001 мг/л (10^{-9} М). Основным механизмом токсического действия солей металлов заключается в торможении процесса деления клеток. При низких концентрациях токсикантов, особенно при концентрации 0,001 мг/л, выявлен «парадоксальный» эффект, выразившийся в преобладании фракции покоящихся клеток. Временное торможение процесса деления клеток можно рассматривать в качестве защитного механизма, позволяющего сохранить целостность популяции и ее способность к длительному существованию в изменяющихся условиях среды. Полученные данные объясняют эффект действия низких концентраций веществ за счет их включения в клетку, последующего накопления и низкого их выведения.

Ключевые слова: *Scenedesmus quadricauda*, нитрат серебра, хлорид меди, низкие концентрации, гетерогенность популяции.

Введение. В последнее время значительное внимание уделяется воздействию различных факторов внешней среды низкой интенсивности – магнитного поля ниже уровня земного поля [1]; слабого магнитного [2] и электромагнитного из-

лучения [3]; светового воздействия [4]; субпорогового постоянного и переменного токов; психотерапевтического воздействия [5]; малых доз биологически активных веществ [6]; низких концентраций различных химических веществ. Во

Ипатова Валентина Ивановна (Ipatova Valentina Ivanovna), к.б.н., доцент, старший научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, viipatova@hotmail.com

Дмитриева Аида Георгиевна (Dmitrieva Aida Georgievna), к.б.н., старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, aigdai@mail.ru

Филенко Олег Федорович (Filenko Oleg Fedorovich), д.б.н., профессор кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, ofilenko@mail.ru

Дрозденко Татьяна Викторовна (Drozdenco Tatiana Viktorovna), к.б.н., доцент кафедры ботаники и экологии растений факультета естественных наук, медицинского и психологического образования ФГБОУ ВО Псковский государственный университет, г. Псков, boichuk@mail.ru

многих случаях воздействия различных факторов при низких интенсивностях оказываются выше, чем при высоких. Токсический эффект низких концентраций обнаружен для многих веществ: металлов, антибиотиков, пестицидов, ионизирующей радиации и других факторов. Механизмы их взаимодействий с живым организмом зависят от скорости включения веществ в клетку и скорости выведения их из клетки, а также от эффективности формирования защитных механизмов.

В лаборатории водной токсикологии (кафедра гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова) такая неспецифическая реакция была выявлена для солей хрома, меди, серебра. Причем токсичность этих соединений при концентрации 0,001 мг/л по ряду показателей для микроводорослей и макрофитов была сопоставима с токсичностью концентраций, больших на 2-3 порядка [7, 8, 9].

Альгологически чистые культуры микроводорослей широко используются в мировой практике как тест-объекты для оценки качества природных и сточных вод, а также для установления токсичности различных веществ, попадающих со стоками в водоемы. Такие культуры характеризуются определенной неоднородностью, поскольку клетки, ее образующие, различаются размерностью, возрастом, скоростями роста и ответными реакциями на изменение среды обитания. Физиологическая гетерогенность популяции проявляется в процессе филогенеза, когда формируются специфические и неспецифические механизмы приспособления ее к меняющимся условиям среды.

Токсичность различных веществ для микроводорослей вследствие включения их в метаболические процессы лучше всего выявляется при проведении длительных экспериментов. В результате может происходить превращение и обезвреживание токсиканта или же его накопление с проявлением токсического эффекта. Многие металлы при низких концентрациях оказывают стимулирующее действие. Однако при длительном воздействии может наблюдаться привыкание к ним с одной стороны, а с другой, вследствие накопления металла клетками и слабого его выведения, токсический эффект может усиливаться.

Процессы активного поглощения различных элементов, в том числе и токсичных, имеют определенные пределы и зависят как от содержания элементов в окружающей среде, так и от метаболической активности самого организма.

Интегральным показателем характеристики популяции микроводорослей является ее численность. Однако для более полной оценки состояния популяции необходимо включать параметры гетерогенности, поскольку клетки, образующие популяцию, различаются по воз-

расту, размерам, скоростям роста и реакциями на изменения условий существования. Важным показателем физиологической гетерогенности популяции является ее структура, поскольку популяция состоит из клеток, имеющих разный физиологический статус.

Целью данной работы является детальное рассмотрение структуры популяции микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* при низких концентрациях солей меди и серебра.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования была альгологически чистая культура пресноводной хлорококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. (= *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew.) Для экспериментов использовали нормально развивающуюся культуру, частично синхронизированную чередованием «дня» и «ночи», с исходной численностью 100 – 200 тыс. кл/мл. Культивирование водорослей проводили на среде Успенского № 1 в люминостате с интенсивностью света 3 клюкс (при 12 час чередовании света и темноты) и температурой 20–24 °С.

Испытывали хлорид меди в малых концентрациях 0,0001 мг/л; 0,001 мг/л; и более высоких 0,01 мг/л; 0,1 и 1 мг/л в пересчете на медь. Токсикант добавляли непосредственно в культуру на разных этапах ее выращивания: в период лаг-фазы (0 сут), экспоненциальной фазы (14-15 сут) и на стационарной фазе (29 сут). Длительность опытов – до 31 сут. В качестве другого токсиканта использовали серебро Ag^+ в форме раствора соли $AgNO_3$. Влияние нитрата серебра в диапазоне концентраций от 0,0001 до 0,1 мг/л изучали на однократно- и дважды синхронизированных культурах, находившихся на фазах логарифмического и стационарного роста. Испытания проводили в трех повторностях для каждой концентрации и контроля. Синхронизацию культуры осуществляли путем помещения ее в темноту на 3 сут и последующего пересева в чистую среду.

Численность клеток определяли с помощью светового микроскопа в камере Горяева. Методом люминесцентной микроскопии оценивали соотношение живых и мертвых клеток. Оценку гетерогенности популяции проводили методом микрокультур, позволяющего контролировать состояние и развитие одиночных клеток (с расчетом удельных рождаемости и смертности клеток) и адекватно отражающим процессы, протекающие в макрокультуре [10]. Микрокультуры – отдельные клетки, взятые из макрокультуры на определенный срок ее развития, и помещенные в миниатюрные камеры для их роста. Макрокультура – популяция клеток, в которую вносили токсикант в соответствующие сроки.

Удельную рождаемость (P) и смертность (C) клеток рассчитывали по формулам:

P (кл/сут) = $N_{\text{род}}/N_{\text{исх}} \cdot \Delta t$, где $N_{\text{род}}$ – число клеток, появившихся в микрокультуре за время Δt ; $N_{\text{исх}}$ – исходное число клеток; Δt – время наблюдения (3 сут);

C (кл/сут) = $N_{\text{отм}}/N_{\text{исх}} \cdot \Delta t$, где $N_{\text{отм}}$ – общее число клеток, отмерших за время Δt . Статистическую обработку полученных результатов производили в программе Excel с использованием пакета анализа данных.

Результаты и обсуждение. Исследование структуры популяции *S. quadricauda* проводили на разных этапах ее развития - на лаг-фазе, фазе логарифмического роста и стационарной фазе при однократном внесении хлорида меди в низких концентрациях 0,001 и 0,0001 мг Cu/л (10^{-9} и 10^{-10} M) и более высоких 0,01; 0,1 и 1 мг/л.

Относительная численность клеток в макрокультуре к концу эксперимента на 30 сутки после внесения хлорида меди на лаг-фазе в концентрации 0,0001 мг Cu/л была ниже контроля примерно на 18 %, а при 0,001 мг Cu/л – на 45 %. В контроле на 1-4 сутки и на 25-28 сут преобладала фракция покоящихся клеток (рис. 1). В период 22-31 сут фракция покоящихся клеток составляла при концентрации 0,0001 мг Cu/л 60 %, а при 0,01 мг Cu/л – 88 %. Однако к концу эксперимента в обоих вариантах возрастала доля делящихся клеток: до 10 % при 0,001 и до 25 % при 0,0001 мг Cu/л, но общая численность клеток была ниже уровня контроля.

Относительная численность клеток *S. quadricauda* также была ниже уровня контроля при внесении меди в этих же концентрациях на фазе логарифмического роста культуры. На 14-17 сут в структуре популяции макрокультуры преобладала фракция покоящихся клеток, особенно при концентрации 0,0001 мг Cu/л (рис. 2). На 28-31 сут структурный состав изменился: если при концентрации 0,0001 мг Cu/л увеличилась доля делящихся клеток и доля отмерших клеток, то при 0,001 мг Cu/л увеличивалась доля покоящихся клеток до 80 % (по данным метода микрокультуры). Следует отметить, что снижение численности клеток при концентрации 0,0001 мг Cu/л было сопоставимо с таковым при концентрации 0,1 мг Cu/л [11], что свидетельствует о наличии токсического эффекта.

С одной стороны, увеличение доли делящихся клеток к концу эксперимента после внесения хлорида меди в концентрациях 0,0001 и 0,001 мг Cu/л, как на лаг-, так и на лог-фазах свидетельствует об активации компенсаторных механизмов у *S. quadricauda*, способствующих постепенному восстановлению численности популяции за счет формирующихся устойчивых к меди клеток. С другой стороны, известно, что в любой популяции имеется пул исходно резистентных клеток, которые также обеспечивают сохранность популяции. Таким образом, при токсической на-

грузке любая популяция способна противостоять негативному воздействию, мобилизуя различные адаптационные механизмы.

На стационарной фазе роста численность клеток была высокой, а доля размножившихся клеток (по данным метода микрокультуры) – низкой. Поэтому общая численность клеток изменялась мало. В контроле как в начале, так и в конце развития культуры преобладала фракция покоящихся клеток, а некоторый прирост общей численности происходил за счет увеличения удельной рождаемости, когда немногочисленные размножающиеся клетки давали большее число новых клеток.

При концентрации 0,001 мг Cu/л численность клеток в макрокультуре была близкой к таковой в контроле и даже наблюдалась некоторая стимуляция ее роста за счет увеличения удельной рождаемости (0,22-0,33 кл/сут). Удельная смертность клеток также была выше, чем в контроле (0,11-0,17 кл/сут), но увеличение удельной смертности было менее значимо, чем увеличение удельной рождаемости. Это и послужило причиной некоторого прироста численности клеток – на увеличение смертности популяция отреагировала повышением рождаемости. А при концентрации 0,0001 мг Cu/л доля размножившихся клеток была ниже, чем в контроле, и, соответственно, ниже была удельная рождаемость (0,03 кл/сут). Большая часть клеток находилась в покоящемся состоянии. Поэтому общая численность клеток в макрокультуре была ниже, чем в контроле. Таким образом, при концентрации 0,0001 мг Cu/л проявился больший токсический эффект, чем при концентрации 0,001 мг Cu/л. Увеличение же числа размножившихся клеток в присутствии 0,001 мг Cu/л также можно рассматривать в качестве ответной реакции на токсикант. Это можно объяснить тем, что при токсическом воздействии клетки *S. quadricauda* могут делиться, не достигая оптимальных размеров, т.е. делятся «молодые» мелкие клетки. Подобный эффект описан В.Ю. Прохоцкой с соавт. [12,13], а именно: делились «мелкие» клетки при воздействии сульфата имазалила и бихромата калия, что можно рассматривать в качестве компенсаторного механизма популяции микроводорослей на токсическое воздействие.

В контроле, как в начале, так и в конце развития макрокультуры, преобладала фракция покоящихся клеток, а некоторый прирост общей численности происходил за счет увеличения удельной рождаемости, когда немногочисленные размножающиеся клетки давали большее число новых клеток. В целом проявление токсичности меди в концентрациях 0,001 и 0,0001 мг Cu/л при внесении ее на стационарной фазе роста было более слабым по сравнению с опытами, когда медь

вносили на лаг- и лог-фазах роста. Такая реакция на внесение меди может быть связана с тем, что «молодые» клетки (лаг- и лог-фазы роста) более чувствительны к действию токсиканта. Кроме того, общая численность клеток при внесении меди на лаг- и лог-фазах была существенно ниже (20 и 70 тыс кл/мл), чем на стационарной фазе роста культуры (650 тыс кл/мл), поскольку на каждую клетку меди приходилось в 4-5 раз меньше, чем на лаг- и лог-фазах.

Ранее было показано [7], что при концентрации 0,001 мг Cu/л максимум накопления меди клетками *S. quadricauda* приходился на 15 сут, а затем наблюдалось ее медленное выведение из клеток.

Оказалось, что на 30 сут содержание меди в клетках при концентрации 0,001 было выше, чем при концентрациях 0,01 и 0,1 мг Cu/л.

Влияние нитрата серебра в концентрациях 0,0001 и 0,001 мг Ag/л было исследовано при внесении в однократно синхронизированную культуру на стационарной и лог-фазах роста и в дважды синхронизированную на лог-фазе роста.

Однократно синхронизированная культура на стационарной фазе роста содержала 66 % живых клеток, тогда как на лог-фазе – более 90%. При концентрациях 0,0001 и 0,001 мг Ag/л численность клеток на стационарной фазе роста была выше уровня контроля, а на лог-фазе к концу

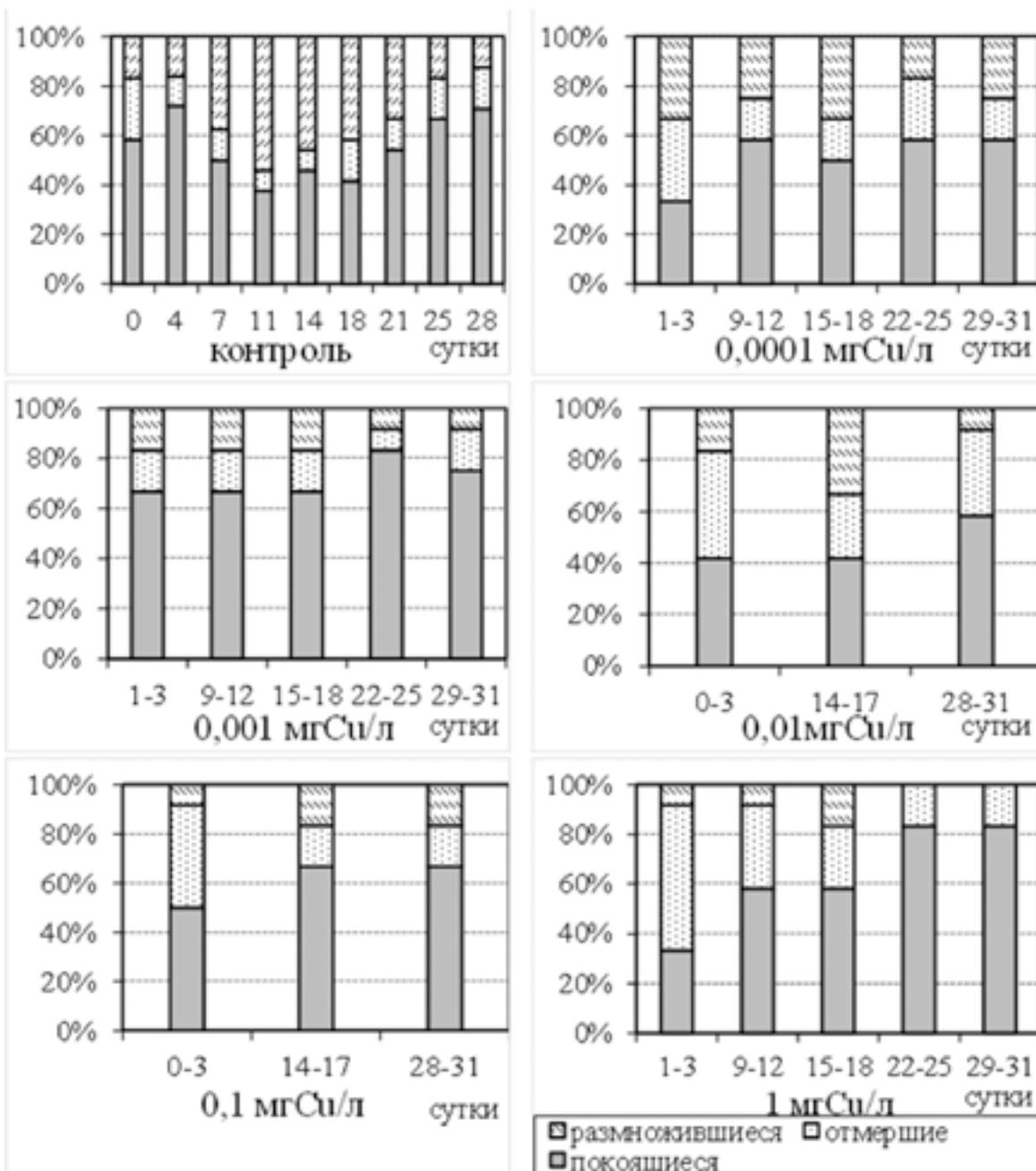


Рис. 1. Динамика изменения фракционного состава культуры *Scenedesmus quadricauda* после внесения хлорида меди на лаг-фазе, определявшаяся методом микрокультур

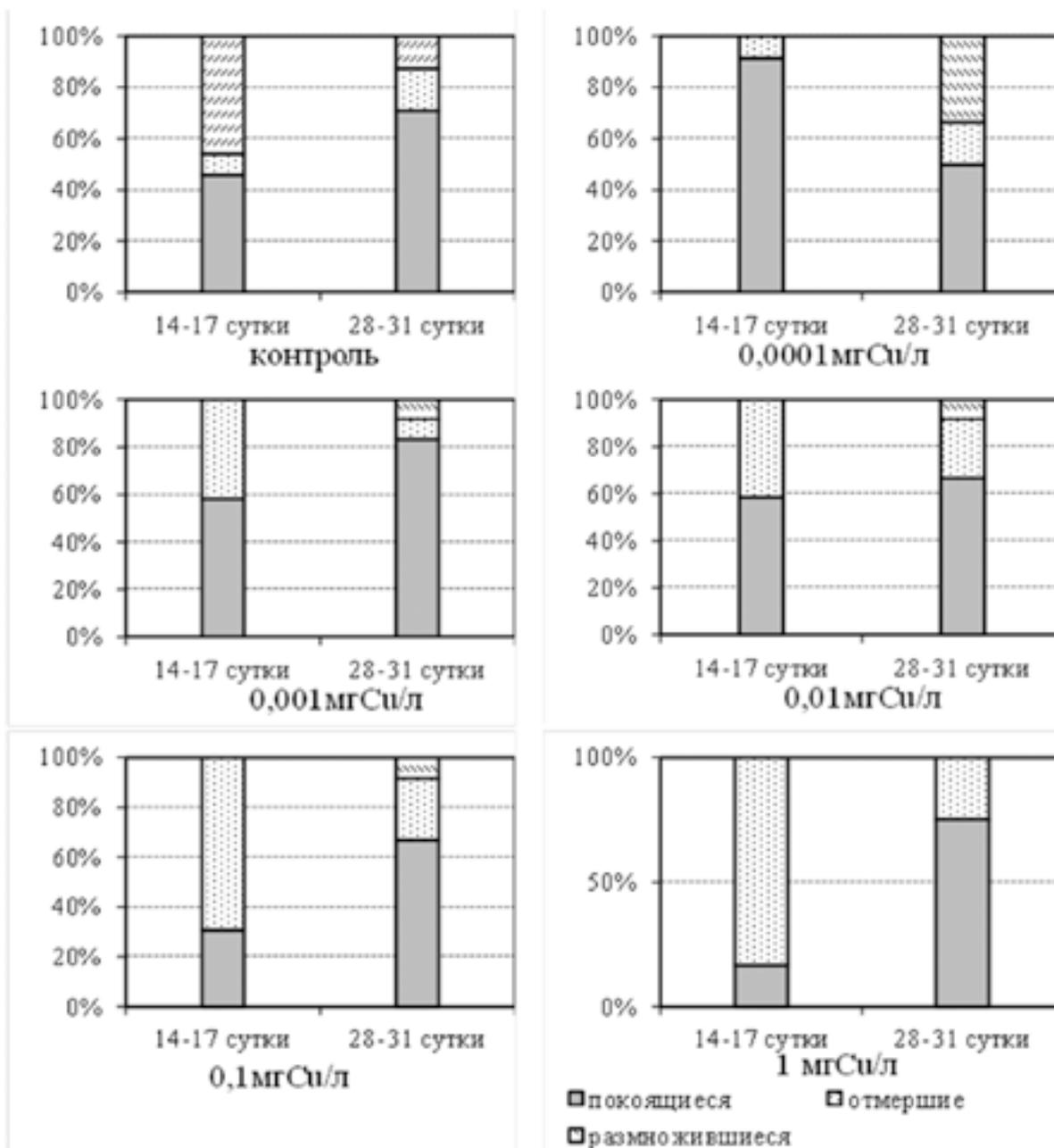


Рис. 2. Динамика изменения фракционного состава культуры *Scenedesmus quadricauda* после внесения хлорида меди на экспоненциальной фазе роста

эксперимента достоверно снижалась, особенно при концентрации 0,001 мг Ag/l (на 50 %). В дважды синхронизированной культуре, состоящей исключительно из молодых делящихся клеток на лог-фазе роста, в присутствии 0,0001 и 0,001 мг Ag/l изменение численности клеток проходило в том же режиме, что и у однократно синхронизированной культуры, взятой в эксперимент на стационарной фазе роста. Среднее время одного клеточного деления в однократно синхронизированной культуре на стационарной фазе роста в контроле и при концентрациях 0,0001 и 0,001 мг Ag/l составляло 5,2-5,5 сут, а при этих же концентрациях в дважды синхронизированной культуре на логарифмической фазе

роста одно клеточное деление в среднем происходило за 5,6 и 5,8 сут, соответственно, т.е. темп деления клеток был более замедленным.

Структурный состав однократно синхронизированной культуры на стационарной фазе роста, определенный методом микрокультур, характеризовался преобладанием фракции покоящихся клеток как в контроле, так и при концентрации 0,0001 мг Ag/l (рис. 3). Однако в период 14-17 сут в присутствии 0,0001 мг Ag/l возрастало число размножившихся клеток (до 50%). При этом удельная рождаемость была в 2 раза выше, чем в контроле, и составляла 0,33 кл/сут (табл. 1). При концентра-

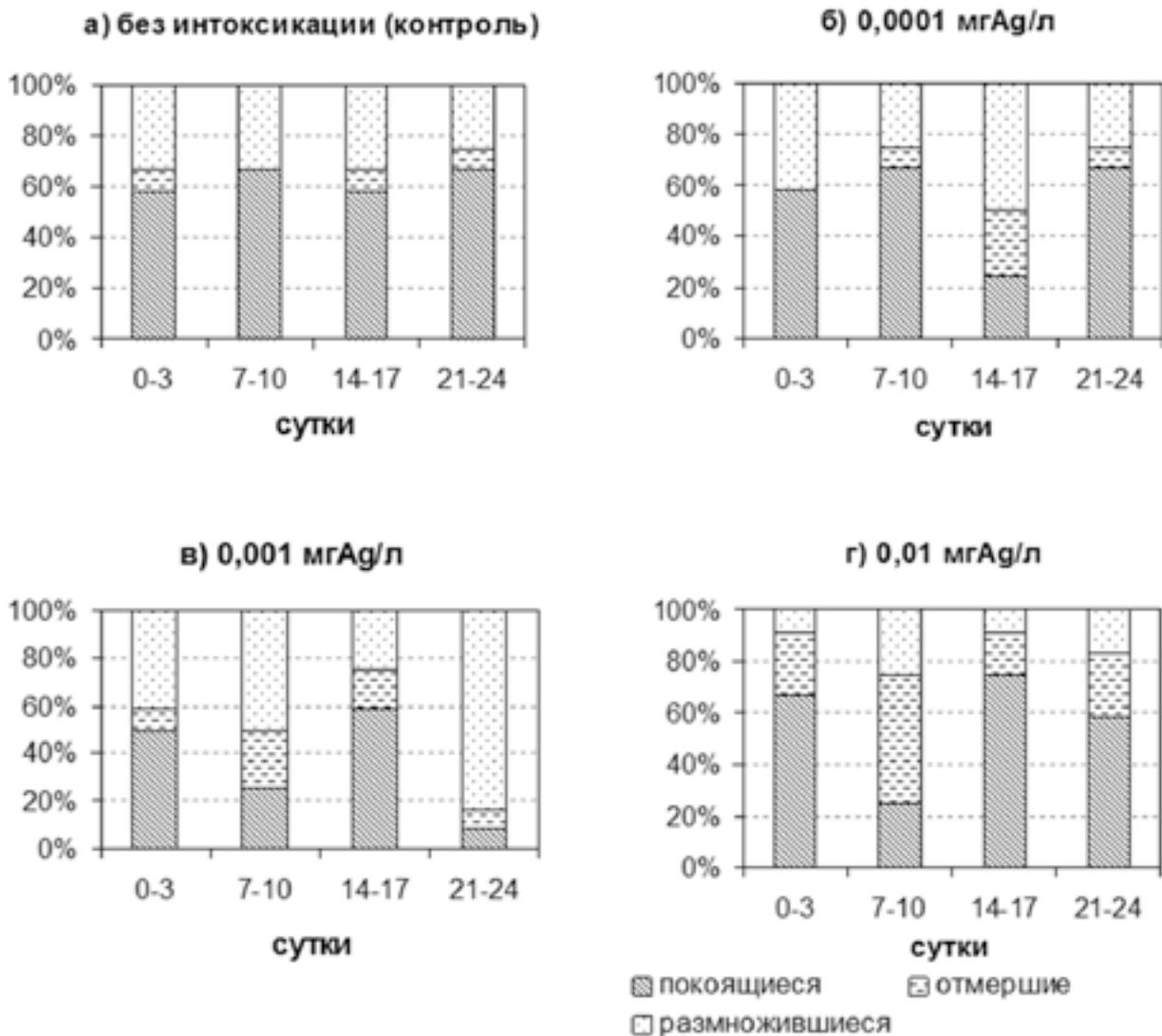


Рис. 3. Динамика изменения фракционного состава культуры *Scenedesmus quadricauda* после внесения нитрата серебра на стационарной фазе роста

ции 0,001 мг Ag/л на 21 сут преобладала фракция размножившихся клеток (до 83 %).

Увеличение числа размножившихся клеток при концентрации 0,001 мг Ag/л может быть ответной реакцией на наличие токсиканта в среде, поскольку удельная смертность была выше, чем в контроле, почти в 10 раз, а при 0,0001 мг Ag/л – в 2 раза.

Фракционный состав дважды синхронизированной культуры, взятой в опыт на логарифмической фазе роста, был иным (рис. 4). В контроле и при концентрации 0,0001 мг Ag/л преобладала фракция размножившихся клеток в период 21-31 суток, а при концентрации 0,001 мг Ag/л - с 14 по 24 сутки, однако к концу опыта 0,001 мг Ag/л культура состояла практически из покоящихся клеток (96%), т.е. произошло торможение деления клеток и их переход в покоящееся состояние. При этом удельная рождаемость в контроле и при концентрации нитрата серебра 0,0001 мг Ag/л на 28-31

сутки наблюдений была практически одинаковой на фоне повышенной удельной смертности, тогда как при концентрации 0,001 мг Ag/л удельная рождаемость была ниже, чем в контроле, более чем в 2 раза, а удельная смертность – выше в 1,5 раза (табл. 2).

Таким образом, ответная реакция культуры *S. quadricauda* (изменение численности клеток и фракционный состав) зависели не только от концентрации токсиканта в среде, но и от физиологического состояния: уровня синхронизации культуры и фазы роста.

Нитрат серебра в низких концентрациях оказал на культуру более выраженное токсическое действие, особенно при концентрации 0,001 мг/л, чем хлорид меди при таких же концентрациях после внесения на разных этапах ее развития.

Анализ полученных результатов с внесением низких концентраций (0,0001 и 0,001 мг/л) хлори-

Таблица 1

Удельная рождаемость (P) и смертность (C) клеток культуры *S. quadricauda* на стационарной фазе роста при действии нитрата серебра, кл/сут

Ag ⁺ , мг/л	0-3 сут		7-10 сут		14-17 сут		21-24 сут	
	P	C	P	C	P	C	P	C
контроль	0,17	0,14	0,42	0,06	0,17	0,06	0,11	0,06
0,0001	0,25	0,17	0,25	0,14	0,33	0,22	0,08	0,14
0,001	0,22	0,06	0,39	0,28	0,33	0,39	1,11	0,58
0,01	0,03	0,17	0,14	0,47	0,03	0,11	0,08	0,28

Таблица 2

Удельная рождаемость (P) и смертность (C) клеток дважды синхронизированной культуры *S. quadricauda* на логарифмической фазе при действии нитрата серебра, кл/сут

Ag ⁺ , мг/л	0-3 сут		7-10 сут		14-17 сут		21-24 сут		28-31 сут	
	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C
контроль	0,22	0,13	1,15	0,11	1,47	0,24	1,06	0,17	0,44	0,04
0,0001	0,26	0,18	0,61	0,35	1,06	0,06	0,57	0,26	0,46	0,15
0,001	0,25	0,17	0,24	0,14	0,90	0,06	0,35	0,15	0,19	0,06
0,01	0,03	0,14	0,06	0,22	0,57	0,25	0,46	0,19	0,44	0,24

да меди и нитрата серебра показал, что токсичность данных веществ проявлялась сходным образом – наблюдалось торможение деления клеток и часть клеток в тот или иной период развития макрокультуры переходили в покоящееся состояние, что способствует сохранению потенциала популяции при интоксикации. Было показано [14], что переход клеток в покоящееся состояние наблюдается и при более высоких концентрациях солей меди и серебра. Таким образом, основной механизм токсического действия солей металлов заключается в торможении процесса деления живых клеток. Наиболее чувствительными были клетки культуры, взятой в эксперимент на лаг- и лог-фазах развития. Даже в дважды синхронизированной культуре, которая состояла только из размножившихся клеток, при концентрации 0,001 мг Ag/л к концу эксперимента почти все клетки перешли в покоящееся состояние (как и при внесении токсиканта в культуру на стационарной фазе роста), тогда как при 0,01 мг Ag/л, так и при 0,0001 мг Ag/л преобладала фракция размножившихся клеток.

При концентрациях 0,0001 и 0,001 мг/л меди и серебра методом микрокультур выявлен «парадоксальный» эффект, заключающийся в том, что большая часть клеток в культуре на разных этапах ее развития и времени внесения токсиканта

(лаг-, лог- и стационарная фазы роста) большая часть клеток переходит в покоящееся состояние, т.е. происходит торможение процесса деления клеток. Существует мнение [15], что торможение деления клеток в присутствии токсикантов, возможно, связано со снижением (или задержкой) синтеза специфических серосодержащих полинуклеотидных комплексов, играющих важную роль в процессе образования нуклеиновых кислот и белков в ядерном делении клеток хлорококковых водорослей. При высоких концентрациях токсиканта, когда смертность клеток высокая, по-видимому, происходит усиленный синтез полинуклеотидных комплексов, приводящий к быстрому созреванию резистентных клеток, исходно присутствующих в любой популяции, и их ускоренному делению. Поэтому в любой популяции практически не наблюдается 100% гибели, а включение такого механизма регуляции клеточного деления при неблагоприятных условиях, скорее всего, способствует сохранности популяции в целом. Вероятно, этот механизм срабатывает и при низких концентрациях токсиканта, способствуя увеличению численности клеток.

Неспецифический «парадоксальный эффект» низких концентраций токсикантов (0,001 и 0,0001 мг/л (10^{-9} и 10^{-10} М), впервые обнаруженный Д.Н. Насоновым и В.Я. Александровым в 40-е

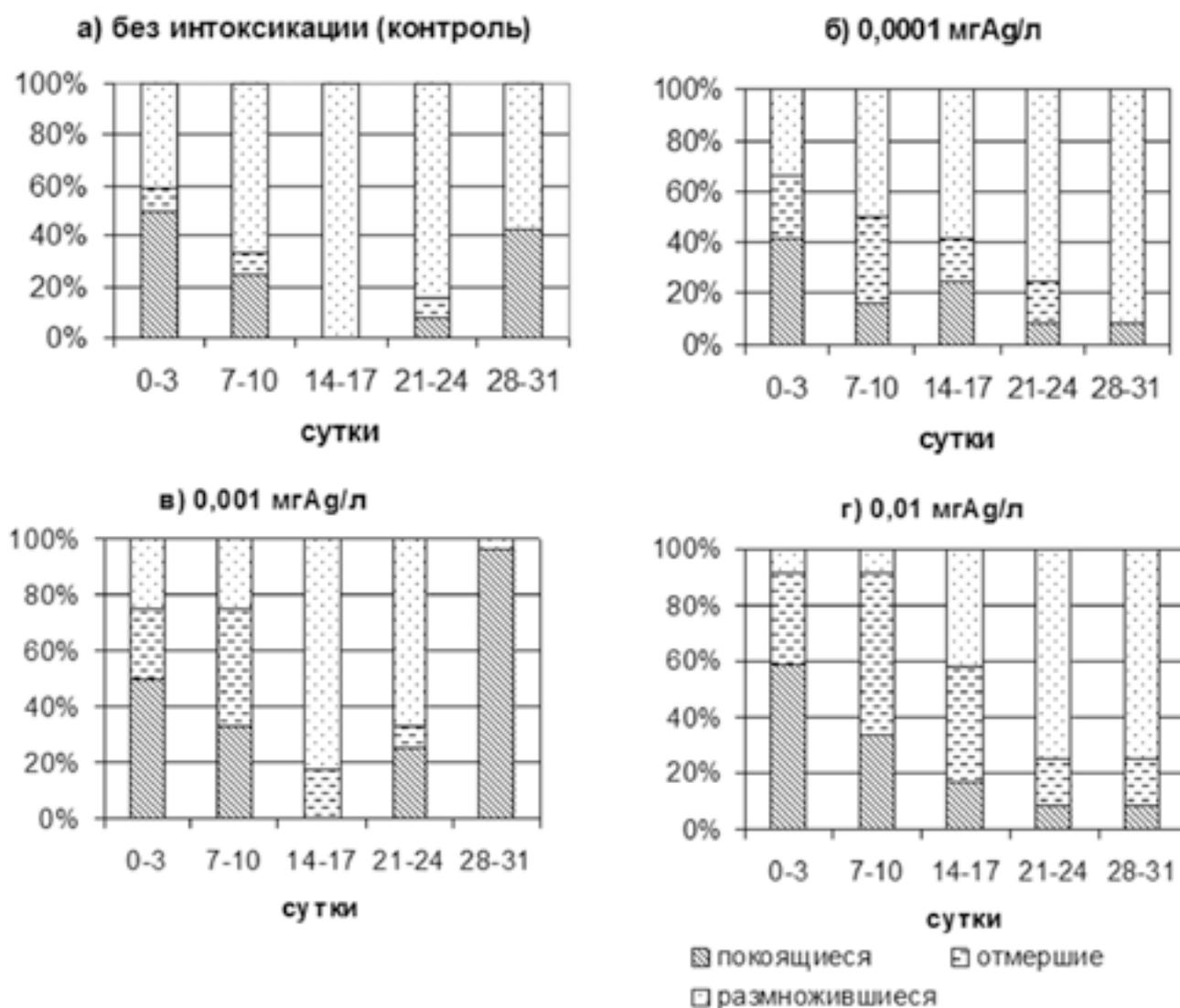


Рис. 4. Динамика изменения фракционного состава дважды синхронизированной культуры *Scenedesmus quadricauda* после внесения нитрата серебра на логарифмической фазе роста

годы прошлого столетия [16] может быть объяснен тем фактом, что клетки водорослей при низких концентрациях накапливают больше токсиканта, чем при более высоких (0,01; 0,1; 1,0 мг/л). Поэтому токсичность солей меди, серебра и хрома по изменению физиологических и биологических показателей сопоставима с токсичностью концентраций, больших на 2-3 порядка [7,8]. Как показали ранее проведенные эксперименты, водные растительные организмы при низких концентрациях металла после длительной интоксикации накапливают его больше, чем при более высоких. Чем выше концентрация металлов, тем быстрее идет их накопление с последующим их выведением из клеток. Так, максимум накопления меди после внесения хлорида меди в культуру *S. quadricauda* происходит в диапазоне от 0,01 до 1 мг/л на 5-7 сут, а при 0,001 мг/л на 15 сут [7]. Следует отметить, что к концу эксперимента при концентрации 0,001 мг/л содержание меди в клет-

ках было выше, чем при 0,01 и 0,1 мг/л. Это можно объяснить тем, что при концентрации 0,001 мг/л процессы выведения были минимальными. Сходная связь накопления хрома в зависимости от его концентрации в среде выявлена и у высшего растения *Elodea canadensis* [8]. К концу эксперимента при концентрации 0,001 мг/л бихромата калия (0,00035 мг Cr/л) содержание хрома в листьях было выше, чем при более высоких концентрациях (0,0035 и 0,035 мг Cr/л).

Таким образом, при низких концентрациях токсиканта водные растительные организмы способны накапливать его и удерживать в клетках больше, чем при средних (больших на 2-3 порядка) концентрациях, вероятно, вследствие его слабого выведения. Поэтому у водорослей наблюдается задержка деления клеток с преобладанием в структуре популяции покоящихся клеток, а у элодеи – замедление прироста основного и боковых побегов из-за недостаточной индуги-

рованности адаптивно-компенсаторных реакций организма [8].

Такой эффект действия низких концентраций в литературе носит название «парадоксального» и является неспецифической реакцией, проявляющейся и при других воздействиях низкой интенсивности (антибиотики, ионизирующая радиация, пестициды и др.) [17] «Парадоксальный» эффект рассматривается в качестве универсального феномена, в основе которого лежат фундаментальные физиологические свойства клетки. По своей сути «парадоксальный» эффект является общебиологической закономерностью, в которой механизмы взаимодействия токсичных веществ с клеткой в каждом отдельном случае зависят от природы токсиканта и эффективности ее защитных механизмов.

Исследование структуры популяции *S. quadricauda* при внесении низких концентраций хлорида меди и нитрата серебра выявило «парадоксальный» эффект, особенно при концентрации 0,001 мг/л, выразившийся в преобладании фракции покоящихся клеток. Ответные реакции микроводорослей на токсическое воздействие сопряжены с различным исходным физиологическим состоянием популяции, а также чувствительностью определенной части клеток в культуре на разных этапах ее развития, что определяет вариабельность ответной реакции со сменой фракций покоящихся, размножившихся и отмирающих клеток в длительном отрезке времени воздействия токсиканта. Временное торможение процесса деления клеток можно рассматривать в качестве защитного механизма, позволяющего сохранить целостность популяции и ее способность к длительному существованию в изменяющихся условиях среды.

Влияние малых доз на живые организмы было показано еще С. Ганеманом в 1790 г. Он предложил лечение малыми дозами. Этот метод лечения получил название гомеопатии. На тот период исследований научной доказательности действия малых доз было недостаточно. А уже в 60-х годах прошлого столетия J. Townsend и T. Luskey была достоверно установлена эффективность действия около 100 гомеопатических препаратов.

Изучение веществ в малых и сверхмалых дозах и концентрациях (10^{-16} и даже 10^{-20}) сравнительно новое направление в токсикологии. Для многих ксенобиотиков при таких условиях обнаруживаются биологические эффекты, зачастую сопоставимые по величине с концентрациями 10^{-4} - 10^{-8} [18]. Подобные эффекты действия выявлены и для некоторых биологических веществ, включая и отравляющие вещества, способные в микроконцентрациях вызывать патологические сдвиги в организме человека и других биообъектах. Причем, сверхмалые дозы этих веществ оказались намного порядков ниже уровня их ПДК [19], поскольку эти низкие дозы не регистрируются никакими методами химического и биохимического анализа.

Несмотря на то, что достоверность эффектов малых доз биологически активных веществ не вызывает сомнений, в литературе до сих пор нет стройной теории, объясняющей парадоксы их действия. Наши данные подтверждают и объясняют эффект действия низких концентраций веществ за счет их включения в клетку, последующего накопления в клетке и низкого их выведения.

Выводы:

1. Колебательный уровень ответа популяции микроводорослей на токсическое воздействие в низких концентрациях сопровождается сменой фракций покоящихся, размножившихся и отмирающих клеток в длительном отрезке времени и установлением ее статуса в измененной среде.

2. Торможение деления клеток при воздействии токсиканта является основным механизмом, способствующим сохранению целостности популяции и ее способности к длительному существованию.

3. Токсический эффект соединений меди и серебра в малой концентрации 0,001 мг/л (в расчете на металл) можно рассматривать в качестве общебиологической закономерности, зависящей от механизмов взаимодействия вещества с клеткой: скорости включения и выведения токсиканта, метаболической активности организма и эффективности защитных механизмов.

Работа выполнена в рамках Государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова часть 2 (тема № АААА-А16-116021660047-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ansari R.M., Hei T.K. Effect of 60Hz extremely low frequency magnetic fields (EMF) on radiation- and chemical-induced mutagenesis in mammalian cells. *Carcinogenesis*. 2000; 6:1221-26.
2. Гаркави Л.Х., Квакуина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. М.: Имедис; 1998; 565 с.
3. Jain S.C., Tyagi K. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on health. *Indian J. Biochem. Biophys.* 1999; 36 (5):348-51.
4. Козлов В.И., Буйлин В.А., Самойлов Н.Г., Марков И.И. Основы лазерной физио- и рефлексотерапии. Самара, Киев: Здоров'я; 1993; 216 с.
5. Белякова Е.П. Артсинтезтерапия в лечении больных с пограничными психическими расстройствами. М.: Шаг; 2000, 68 с.
6. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы. М., Волгоград: Семь ветров; 1999; 640 с.
7. Дмитриева А.Г., Даллакян Г.А., Лысенко Н.Л. Анализ функциональных показателей популяции водорослей в условиях накопления меди. *Альгология*. 1992; 2 (2):30-
8. Дмитриева А.Г., Ипатова (Артюхова) В.И., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л., Желтухин Г.О., Крупина М.В. Реакция *Elodea canadensis* на загрязнение хромом среды обитания. *Вестник МГУ. Сер. Биология*. 2006; 2:17-24.
9. Дмитриева А.Г., Бойчук Т.В., Филленко О.Ф. Гетерогенность популяции *Scenedesmus quadricauda* при разных режимах интоксикации серебром. *Экологические системы и приборы*. 2007; 3:42-3.
10. Филленко О.Ф., Дмитриева А.Г., Марушкина Е.В. Исследование лабораторной популяции водоросли

Scenedesmus quadricauda Turp. (Breb.) методом микрокультур. Гидробиологический журнал. 2007; 42 (5):80-8.

11. Дмитриева А.Г., Марушкина Е.В., Филенко О.Ф. Оценка эффекта меди на модельную популяцию водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. методом микрокультур. Гидробиологический журнал. 2007; 42 (6): 53-54.

12. Прохоцкая В.Ю., Веселова Т.В., Веселовский В.А., Дмитриева А.Г., Артюхова В.И. О причине трехфазного ответа популяции водоросли *Scenedesmus quadricauda* на действие сульфата имазалила. Физиология растений. 2000;

47 (6):877-84.

13. Prokhotskaya V.Yu, Dmitrieva A.G., Veselova T.V., Veselovskii V.A. Types of responses of a model population of microalga *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. under different intoxication conditions. Moscow University biological sciences bulletin. Allerton Press (New York, N.Y., United States), 2007; 62 (4):171-5.

14. Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф., Ипатова В.И. Функциональная гетерогенность популяции клеток микроводоросли *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew. (Chlorophyta) в норме и при интоксикации. Альгология=Algologia.

Киев.: Ин-т ботаники им. Н. Г. Холодного. 2014; 2:147-62.

15. Горюнова С.В., Герасименко Л.М., Лушева М.А. Роль нуклеотидпептидов в клеточном делении водорослей. М.: Наука; 1980; 198 с.

16. Насонов Д.Н., Александров В.Я. Реакция живого вещества на внешние воздействия. М. - Л.: АН СССР; 1940; 240 с.

17. Подколзин А.А., Гуревич К.Г. Действие биологически активных веществ в малых дозах. М.: КМК; 2002; 170 с.

18. Филов В.А. Два актуальных вопроса.

В кн.: Тезисы докладов 2-го съезда токсикологов России. М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России; 2003: 271-2.

19. Шульга В.Я., Петрунин В.А., Имашева М.А., Худенко А.В. Токсикологические аспекты безопасного уничтожения запасов ОВ и ликвидации бывших химических объектов их производства на территории Российской Федерации. В кн.: Тезисы докладов 2-го съезда токсикологов России. М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России; 2003: 297-8.

REFERENCES:

1. Ansari R.M., Hei T.K. Effect of 60Hz extremely low frequency magnetic fields (EMF) on radiation- and chemical-induced mutagenesis in mammalian cells. *Carcinogenesis*. 2000; 6:1221-26.

2. Garkavi L.Kh., Kvakina E.B., Kuz'menko T.S. Anti-stress reactions and activation therapy. М.: Imedis; 1998; 565 p. (in Russian).

3. Jain S.C., Tyagi K. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on health. *Indian J. Biochem. Biophys.* 1999; 36 (5):348-51.

4. Kozlov V.I., Buylin V.A., Samoylov N.G., Markov I.I. Basic of laser physio- and reflexotherapy. Samara, Kiev: Zdorov'ya; 1993; 216 p. (in Russian).

5. Belyakova E.P. Artsintezterapiya in the treatment of patients with borderline mental disorders. М.: Shaq; 2000; 68 p. (in Russian).

6. Sergeev P.V., Shimanovskiy N.L., Petrov V.I. Receptors. М., Volgograd: Sem' vetrov; 1999; 640 p. (in Russian).

7. Dmitrieva A.G., Dallakyan G.A., Lysenko

N.L. Analysis of functional indices of algae population under copper accumulation. *Al'gologiya*. 1992; 2 (2):30-6 (in Russian).

8. Dmitrieva A. G., Ipatova (Artyukhova) V. I., Kozhanova O. N., Dronina N. L., Zheltukhin G. O., Krupina M. V. Elodea canadensis reaction to chromium contamination of habitat. *Vestnik MGU. Ser. Biologiya*. 2006; 2:17-24 (in Russian).

9. Dmitrieva A.G., Boychuk T.V., Filenko O.F. The heterogeneity of the *Scenedesmus quadricauda* population under different regimes of intoxication with silver. *Ekologicheskie sistemy i pribory*. 2007; 3:42-3 (in Russian).

10. Filenko O.F., Dmitrieva A.G., Marushkina E.V. Study of the laboratory population of alga *Scenedesmus quadricauda* Turp. (Breb.) by the method of microcultures. *Gidrobiologicheskii zhurnal*. 2007; 42 (5):80-8 (in Russian).

11. Dmitrieva A.G., Marushkina E.V., Filenko O.F. Estimation of the effect of copper on the model population of alga *Scenedesmus*

quadricauda (Turp.) Breb. by the method microcultures. *Gidrobiologicheskii zhurnal*. 2007; 42 (6): 53-61 (in Russian).

12. Prokhotskaya V.Yu., Veselova T.V., Veselovskiy V.A., Dmitrieva A.G., Artyukhova V.I. About the reason for the three-phase response of the alga *Scenedesmus quadricauda* to imazalil sulphate. *Fiziologiya rasteniy*. 2000; 47 (6):877-84 (in Russian).

13. Prokhotskaya V.Yu, Dmitrieva A.G., Veselova T.V., Veselovskii V.A. Types of responses of a model population of microalga *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. under different intoxication conditions // Moscow University biological sciences bulletin. Allerton Press (New York, N.Y., United States), 2007; 62 (4):171-5.

14. Dmitrieva A.G., Filenko O.F., Ipatova V.I. Functional heterogeneity of the microalgal cell population *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew. (Chlorophyta) under normal and toxic exposure. *Al'gologiya*. Kiev: In-t botaniki im. N. G. Kholodnogo; 2014; 2:147-62 (in Russian).

15. Goryunova S.V., Gerasimenko L.M., Pusheva M.A. Role of nucleotide peptides in the cell division of algae. М.: Nauka; 1980; 198 p. (in Russian).

16. Nasonov D.N., Aleksandrov V.Ya. The reaction of living matter to external influences. М. - Л.: АН СССР; 1940; 252 p. (in Russian).

17. Podkolzin A.A., Gurevich K.G. The action of biologically active substances in small doses. М.: КМК; 2002; 170 p. (in Russian).

18. Filov V.A. Two topical issues. *Tezisy dokladov 2-go s'ezda toksikologov Rossii*. М.: Rossiyskiy registr potentsial'no opasnykh khimicheskikh i biologicheskikh veshchestv Minzdrava Rossii; 2003: 271-2 (in Russian).

19. Shul'ga V.Ya., Petrunin V.A., Imasheva M.A., Khudenko A.V. Toxicological aspects of safe destruction of inventory of OM and liquidation of former chemical objects of their production in the territory of the Russian Federation. *Tezisy dokladov 2-go s'ezda toksikologov Rossii*. М.: Rossiyskiy registr potentsial'no opasnykh khimicheskikh i biologicheskikh veshchestv Minzdrava Rossii; 2003: 297-8 (in Russian).

V.I. Ipatova¹, A.G. Dmitrieva¹, O.F. Filenko¹, T.V. Drozdenko²

ABOUT SOME PECULIARITIES OF THE PHYSIOLOGICAL HETEROGENEITY OF THE POPULATION OF SCENEDESMUS QUADRICAUDA (TURP.) BREB. IN THE PRESENCE OF LOW CONCENTRATIONS OF METALS

¹M.V. Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation

²Pskov State University, 180000, Pskov, Russian Federation

The structure of the laboratory population of green microalgae *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb (=Desmodesmus communis E. Hegew.) was studied at different stages of its growth (lag-phase, log-phase and stationary phase) at low concentrations of copper chloride and silver nitrate by the method microculture, allowing to monitor the state and development of single cells having different physiological status. The response of the culture of *S. quadricauda* - the change in the number of cells and the fractional composition (the fraction of dividing, «dormant» and dying cells) depended not only on the concentration of the toxicant in the medium, but also on the physiological state of the culture: the level of synchronization and the growth phase. Silver ions at low concentrations had a more pronounced toxic effect on the culture than copper ions at different phases of its development, especially at a concentration of 0.001 mg/l (10^{-9} M). The main mechanism of the toxic effect of metals is to inhibit the process of cell division. At low concentrations of toxicants, especially at a concentration of 0.001 mg/l, a «paradoxical» effect expressed in the predominance of the fraction of «dormant» cells was revealed. The temporary inhibition of the process of cell division can be regarded as a protective mechanism that allows preserving the integrity of the population and its ability to survive in a changing environment. The obtained data explain the effect of action of low concentrations of substances due to their inclusion in the cell, the subsequent accumulation in the cell and their low excretion.

Keywords: *Scenedesmus quadricauda*, silver nitrate, copper chloride, low concentrations, heterogeneity of population.

Материал поступил в редакцию 28.03.2018 г.

УДК 581.1; 582.232; 628.394

ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТА Ag/AgCl НА КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ SCENEDESMUS QUADRICAUDA И PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM

А.Г. Тригуб¹, В.И. Ипатова²

¹ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, 107140, г. Москва, Российская Федерация
²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, г. Москва, Российская Федерация

Токсичность нанокompозита Ag/AgCl оценивали в разных концентрациях в хронических опытах 41 сут, используя стандартные пресноводные и морские растительные тест-организмы *Scenedesmus quadricauda* (0,05; 0,1; 0,5 и 1,0 мг/л) и *Phaeodactylum tricorutum* (0,25; 0,5; 1,0 и 2,0 мг/л). Проведена сравнительная чувствительность тест-организмов в острых экспериментах (72 час) по величине полуметальной концентрации (LC_{50}). Установлено, что зеленая водоросль *S. quadricauda* более чувствительна к нанокompозиту Ag/AgCl ($LC_{50} = 0,02$ мг/л), чем морская диатомея *P. tricorutum* ($LC_{50} = 0,3$ мг/л). Наибольший альгицидный эффект на рост культуры *S. quadricauda* оказал нанокompозит в концентрациях 1 и 0,5 мг/л, при которых культура не росла на протяжении всего эксперимента. А при концентрациях 0,1 и 0,05 мг/л наблюдался альгостатический эффект в течение 10 и 1 сут, соответственно, после чего культура возобновляла рост. В культуре *P. tricorutum* при концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л происходило длительное ингибирование роста, однако после 25 сут при 1,0 мг/л численность клеток начинала увеличиваться. В присутствии 0,5 мг/л культура возобновляла рост после 4-сут лаг-фазы и догоняла по численности контроль. В концентрации 0,25 мг/л рост *P. tricorutum* был или на уровне контроля или даже превышал его. Различия в ответной реакции двух видов водорослей можно объяснить как индивидуальной особенностью вида, так и более сложным составом морской питательной среды, снижающей токсичность нанокompозита. По данным аналитической электронной микроскопии установлено, что серебро из нанокompозита Ag/AgCl уже через сутки попадает внутрь клеток водорослей *S. quadricauda* и *P. tricorutum*, беспрепятственно проходя как через клеточную стенку, так и мембрану клеток.

Ключевые слова: *Scenedesmus quadricauda*, *Phaeodactylum tricorutum*, нанокompозит Ag/AgCl, токсичность.

Введение. Увеличение интереса к наночастицам связано с возможностью использования наноматериалов во многих областях науки и техники. К одним из таких продуктов относятся наночастицы серебра, которые могут быть в виде кластеров, коллоидов и нанокompозитов с различными стабилизаторами. Препараты на основе наносеребра представляют серьезный научный интерес и широко используются для санитарно-гигиенических целей.

Широкий спектр антибактериального, антивирусного и фунгицидного действия характерен как для ионов, так и для наночастиц серебра (НЧС) [1, 2]. Эффективность НЧС зависит от концентрации и их стабильности, размера и формы. В наноразмерном состоянии любые вещества приобрета-

ют новые химические, физические и биологические свойства, существенно отличающиеся от их свойств в макрообъемном состоянии [3]. Чем меньше НЧС, тем больше отношение площади поверхности к объему, что увеличивает область контакта серебра с бактериями или вирусами, значительно повышая антимикробный эффект [4].

В краткосрочных экспериментах на примере лабораторных культур водорослей показано, что наиболее чувствительными к НЧС являются пресноводные зеленые водоросли *Scenedesmus quadricauda* и морские диатомовые водоросли *Phaeodactylum tricorutum* по сравнению с организмами зоопланктона и мальками рыб [5].

У зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* наиболее чувствительной мишенью является фо-

Тригуб Анатолий Григорьевич (*Trigub Anatolii Grigoryevich*), младший научный сотрудник лаборатории эколого-токсикологических исследований ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, 107140, г. Москва, trigub931@gmail.com
 Ипатова Валентина Ивановна (*Ipatova Valentina Ivanovna*), к.б.н., доцент, старший научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, viipatova@hotmail.com.

тосинтетический аппарат. Происходит снижение активности ФС II, нарушается поток электронов от ФС II в пул хинонов, снижается энергизация мембран [6]. Показано [7], что в присутствии НЧС происходит уменьшение содержания хлорофилла в клетках водорослей *Chlorella vulgaris* и *Dunaliella tertiolecta* и увеличение образования активных форм кислорода.

Одной из задач, стоящих перед исследователями, является выяснить, токсичны ли на самом деле НЧС или токсичны ионы Ag^+ , выделяемые этими частицами. Исследование влияния НЧС и ионов Ag^+ (в форме соли $AgNO_3$) на фотосинтез водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* показало [8], что $AgNO_3$ в 18 раз токсичнее НЧС по величине EC_{50} . При этом в суспензии НЧС вначале присутствовало всего 1% ионной формы (Ag^+). Однако токсичность НЧС может со временем увеличиваться вследствие поступления ионов серебра в среду в течение экспозиции в присутствии водорослей.

Следующей немаловажной задачей является выяснение путей поступления НЧС в клетку. Некоторые авторы полагают, что в клетки проникают не сами НЧС, а выделенные ими ионы серебра (Ag^+) [4, 9, 10].

Предложено несколько путей поступления и накопления НЧС и ионов Ag^+ в клетках водорослей:

1. Адсорбция на клеточной стенке с последующим поступлением внутрь клетки ионов Ag^+ [8, 11];

2. Интернализация – эндоцитозное поглощение НЧС через клеточную мембрану, как было показано на примере золотистой пресноводной водоросли *Ochromonas danica* [12];

3. Выделение ионов Ag^+ из НЧС в среду, а затем поступление ионов Ag^+ внутрь клетки [8, 10, 13, 14]

Несмотря на высокую токсичность НЧС, обнаружена способность водорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Monoraphidium arcuatum* к адаптации к ним [15] и их детоксификации в воде в присутствии морской диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* [11].

Ag^+ оказывают плейотропное действие на различные клеточные процессы, взаимодействуя со многими клеточными мишенями, но основные мишени и механизм действия серебра изучены недостаточно. Для микробной клетки известно, что при низких концентрациях Ag^+ взаимодействуют с мембраной, а при более высоких концентрациях – с цитоплазматическими компонентами внутри клетки. С клетками снаружи связывается около 40 %, а внутрь клетки проникает около 60 % Ag^+ [9, 16].

При действии Ag^+ цитоплазматическая мембрана становится проницаемой, нарушается гра-

диент протонов и из нее выходят ионы калия [17]. Предполагается, что Ag^+ инактивируют ферменты, содержащие тиоловые группы, например, ферменты дыхательной цепи, связанные с мембраной. Показано, что Ag^+ повреждают электрон-транспортную цепь, разобщают окислительное фосфорилирование [18]. Аналогично действуют Ag^+ , образованные из НЧС. Ингибируя дыхательные ферменты, они способствуют синтезу супероксид-аниона, пероксида водорода, гидроксила и других активных форм кислорода, способных повреждать бактериальную клетку. В присутствии Ag^+ нарушается работа цикла трикарбоновых кислот [9, 19]. Известно, что НЧС нарушают работу клеточных стенок, мембран, негативно воздействуют на генетический материал [20].

Токсическое действие наночастиц обусловлено индукцией сильного окислительного стресса, нарушающего баланс между окислительными и антиокислительными процессами в клетке [21, 22]. Такое действие может вызывать взаимодействие Ag^+ с функциональными тиоловыми группами (-SH), поскольку ионы Ag^+ имеют высокое сродство к ним [23]. Увеличение свободных радикалов приводит к повреждению белков, ДНК, а также к перекисному окислению липидов [24].

В санитарных нормах России для Ag^+ установлен норматив ПДК равный 0,05 мг/л и присвоен второй класс опасности (высоко опасное вещество), а в гигиенических нормативах содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей среды» представлен ориентировочно допустимый уровень (ОДУ) содержания наночастиц равный 0,05 мг/л. Увеличивающееся производство промышленных товаров, содержащих наночастицы, в том числе и наночастицы серебра, увеличивает и риск их попадания в водоемы. До настоящего времени нет разработанного норматива содержания НЧС для водных объектов рыбохозяйственного значения [5, 25].

Синтезируемые на основе серебра наноматериалы и наночастицы в случае попадания в окружающую среду могут стать фактором риска для живых организмов [26]. В связи с этим важно проводить оценку их токсичности. Для этих целей может служить широко известный метод биотестирования с использованием тест-организмов различных трофических уровней. При антропогенном загрязнении одними из наиболее уязвимых объектов в водной экосистеме являются продуценты, в частности организмы фитопланктона.

Целью данной работы является оценка токсичности нанокompозита $Ag/AgCl$ методом биотестирования с использованием тест-культур микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Phaeodactylum tricornutum*.

Материалы и методы исследования. Для исследований использовали стандартные растительные тест-объекты – пресноводную зеленую ценобиальную микроводоросль *Scenedesmus quadricauda* (= *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew.) и морские одноклеточную диатомею *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin, 1897). В качестве токсиканта – биоцидный препарат на основе нанокompозита Ag/AgCl стабилизированного не-ионогенным ПАВ. Размер частиц 10-70 нм. Хронические эксперименты проводили в трех повторностях длительностью 41 сут.

S. quadricauda выращивали на среде Прата, а *P. tricornutum* – на морской среде Гольдберга (в модификации Кабановой) соленостью 20‰ в люминистате при освещенности 3 клк со сменой темного и светового периода каждые 12 часов и температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Постановку и ведение экспериментов проводили согласно методическим указаниям [27]. Для пресноводной водоросли *S. quadricauda* исследованы концентрации 0,05; 0,1; 0,5 и 1,0 мг/л, а для морской – *P. tricornutum* 0,25; 0,5; 1,0 и 2,0 мг/л нанокompозита Ag/AgCl.

Численность водорослей в контроле и опыте определяли методом измерения быстрой флуоресценции хлорофилла а на приборе «Флюорат 02-3М».

Детекцию и выявление локализации серебра в клетках водорослей проводили методом аналитической просвечивающей электронной микроскопии [28] при ускоряющем напряжении 100 кВ на аналитическом просвечивающем микроскопе JEOL -2100 (JEOL, Япония) с энергодисперсионным рентгеновским детектором X-Max (Oxford instruments, Великобритания).

Подготовку клеток водорослей для анализа на аналитическом просвечивающем микроскопе проводили после 1 сут экспозиции водорослей в нанокompозите Ag/AgCl с концентрацией 2 мг/л. Клетки отмывали чистой питательной средой для культивирования путем центрифугирования при 4000 об/мин. Осадок смешивали с чистой средой, содержащей 2,5% глутарового альдегида и 4% формальдегида, а затем дофиксировали в 1% растворе OsO_4 в течение 2 часов. Процедуру обезвоживания проводили в спиртовых растворах возрастающей концентрации (30, 40, 50, 60, 70, 80, 96 каждый этап по 20 минут и 100% 30 минут). Далее проводили заливку ацетоном с эпоксидной смолой (в пропорциях 1:3, 1:1, 3:1) и чистой смолой. Каждый этап заливки занимал сутки. После чего залитые пробы полимеризовали в течение суток при 37°C и до полного застывания при 64°C . Заполимеризованные эпоксидные блоки нарезали на ультрамикротоме алмазным ножом на срезы толщиной 80-100 нм. Полученные срезы монтировали на медные сеточки для электронной

микроскопии с ультратонким слоем из формвара, контрастировали по Рейнольдсу и стабилизировали углеродом.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Excel-2010 с использованием пакета анализа данных. Достоверность различий опытных значений от контрольных рассчитывали при помощи критерия Стьюдента для уровня значимости 0,05.

Результаты и обсуждение. Данные по влиянию нанокompозита Ag/AgCl в диапазоне исследованных концентраций от 0,05 до 1 мг/л на культуру *S. quadricauda* представлены на рисунке 1А. Наибольший альгицидный эффект на рост культуры оказал нанокompозит в концентрациях 1 и 0,5 мг/л, при которых в течение всего срока наблюдений (41 сут) культура не росла совсем. При концентрациях 0,1 и 0,05 мг/л наблюдался альгостатический эффект, выражавшийся в отсутствии роста в течение 10 и 1 сут, соответственно, после чего культура возобновляла рост в обоих случаях. Стоит отметить, что хотя значения максимальной численности были ниже максимальных значений в контроле, тем не менее, к 41 суткам численность клеток при 0,1 и 0,05 мг/л нанокompозита была или на уровне контроля или даже превышала его.

Для морской водоросли *P. tricornutum* (рис. 1Б) в диапазоне исследованных концентраций нанокompозита Ag/AgCl от 0,25 до 2,0 мг/л установлено, что при концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л происходило длительное ингибирование роста культуры на протяжении эксперимента, однако после 25 сут при концентрации 1,0 мг/л численность клеток начинала увеличиваться. В присутствии 0,5 мг/л культура возобновляла рост после 4 сут лаг-фазы и догоняла по численности контроль на 25 сут. В концентрации 0,25 мг/л рост *P. tricornutum* был или на уровне контроля или даже превышал его. К концу опыта на 41 сут численность клеток при 0,25 и 0,5 мг/л нанокompозита была как в контроле.

Таким образом, различие в ответной реакции двух видов водорослей состояло в том, что по показателю численности клеток минимально летальной концентрацией для *S. quadricauda* была 1 мг/л, а для *P. tricornutum* – 2 мг/л, что свидетельствует о большей устойчивости к токсическому действию нанокompозита морской водоросли по сравнению с пресноводной. Это можно объяснить как индивидуальной особенностью вида, так и более сложным составом морской питательной среды, снижающей токсичность нанокompозита.

В проведенных исследованиях при оценке эффектов НЧС были определены их полуэффективные концентрации. Установлено, что зеленая водоросль *S. quadricauda* более чувствительна к нанокompозиту Ag/AgCl ($\text{LC}_{50} = 0,02$ мг/л), чем

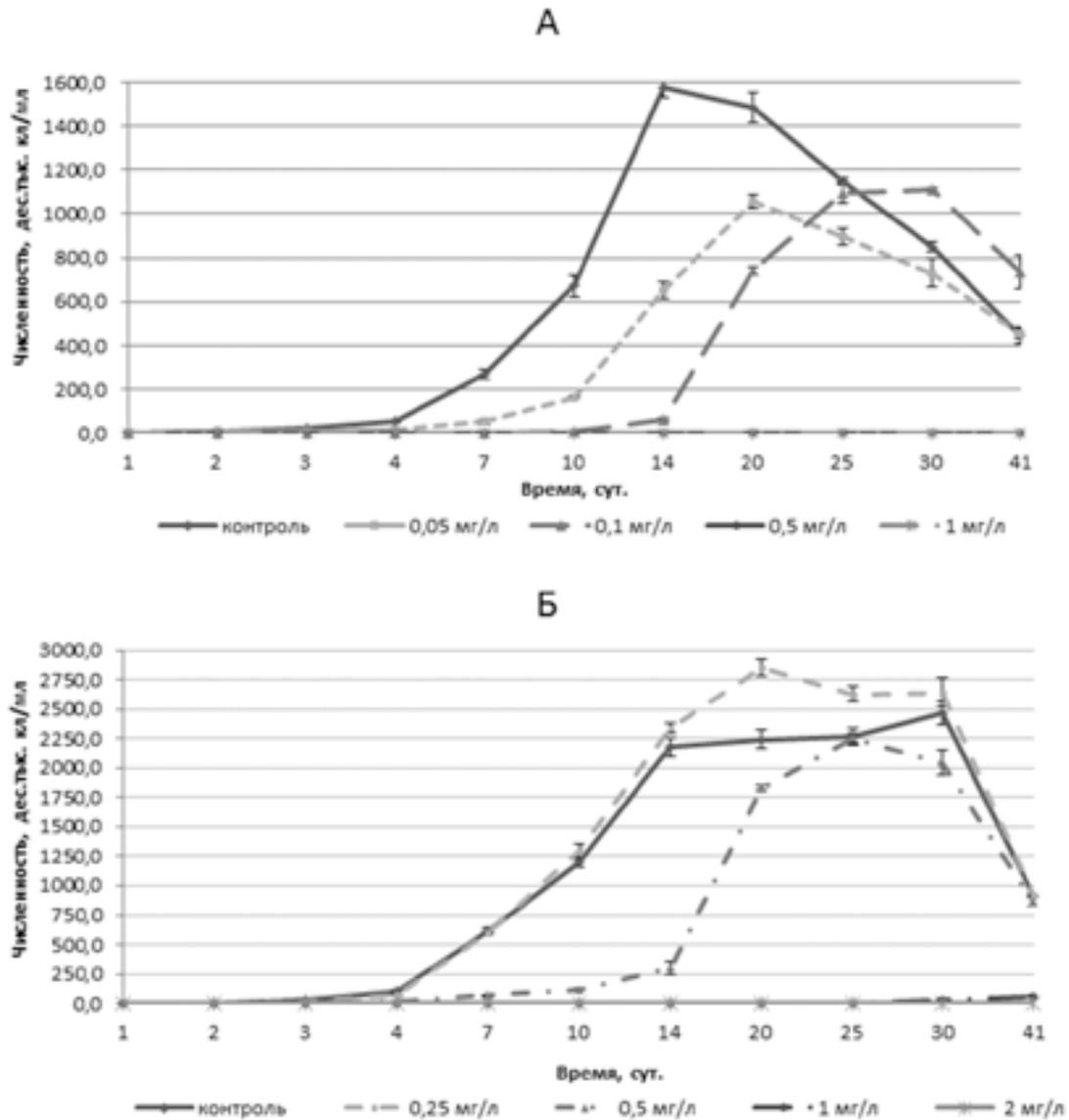


Рис. 1. Влияние нанокompозита Ag/AgCl на культуры *Scenedesmus quadricauda* (А) и *Phaeodactylum tricornutum* (Б) в динамике их развития

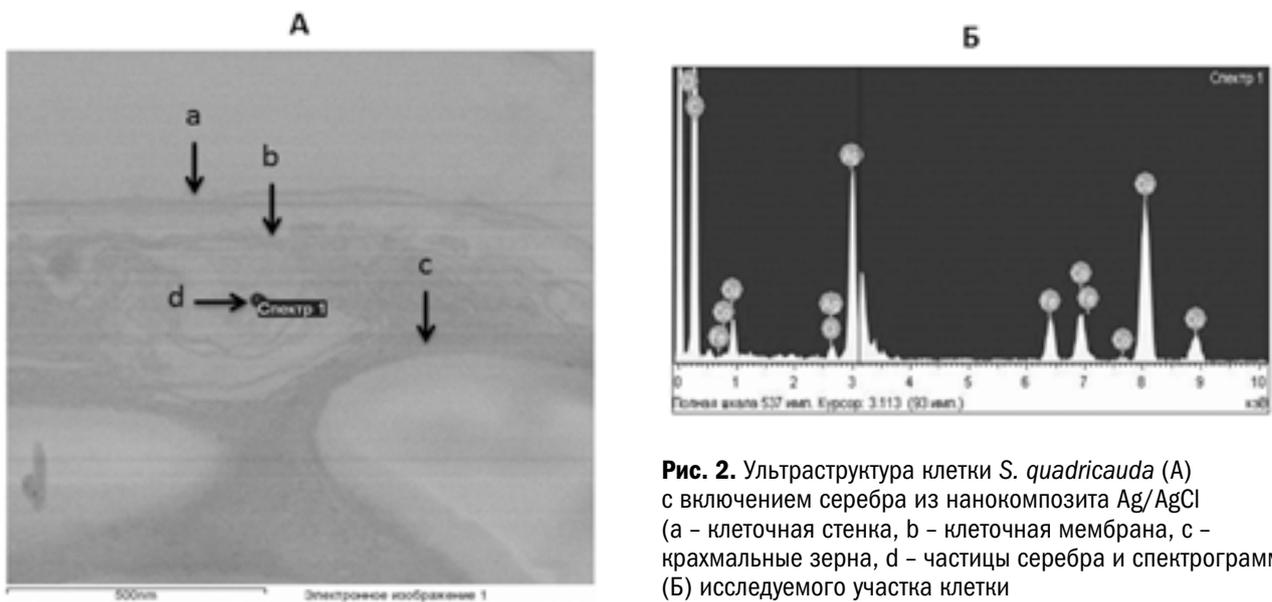


Рис. 2. Ультраструктура клетки *S. quadricauda* (А) с включением серебра из нанокompозита Ag/AgCl (а – клеточная стенка, б – клеточная мембрана, с – крахмальные зерна, д – частицы серебра и спектрограмма (Б) исследуемого участка клетки

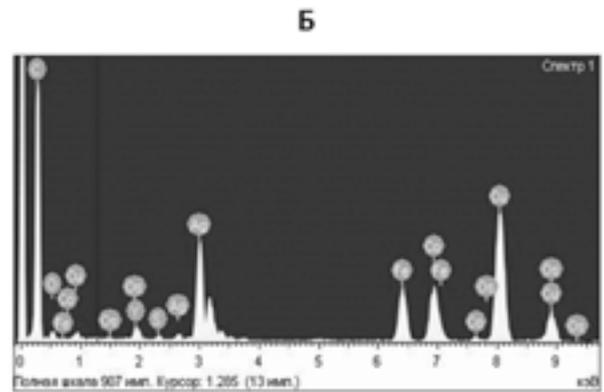
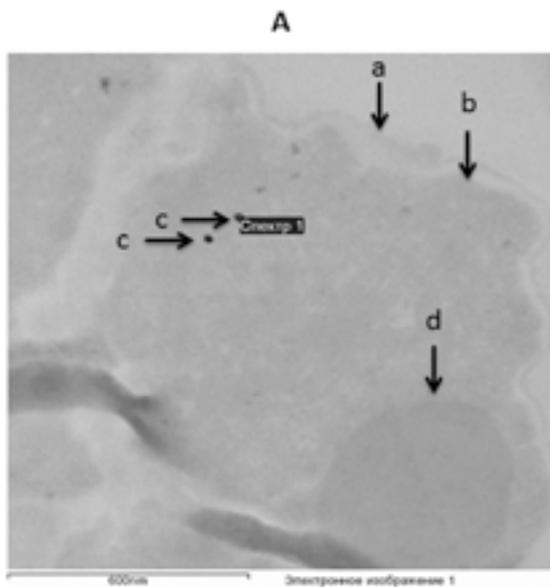


Рис. 3. Ультраструктура клетки *P. tricornutum* (А) с включением серебра из нанокompозита Ag/AgCl (а – клеточная стенка, b – клеточная мембрана, с - частицы серебра, d – жировые включения) и спектрограмма (Б) исследуемого участка клетки

морская диатомея *P. tricornutum* ($LC_{50} = 0,3$ мг/л). При этом, судя по величине LC_{50} за 72 час, нанокompозит более токсичен, чем коллоидное серебро [5] для *S. quadricauda*, а для *P. tricornutum* - наоборот.

Методом аналитической просвечивающей электронной микроскопии после 1 сут экспозиции *S. quadricauda* и *P. tricornutum* в присутствии нанокompозита Ag/AgCl в концентрации 2 мг/л были получены изображения включений серебра в клетках водорослей и подтверждены данными энергодисперсионного рентгеновского детектора.

Анализ изображений, представленных на рисунках 2 и 3, показал, что серебро из нанокompозита Ag/AgCl, добавленного в культуры *S. quadricauda* и *P. tricornutum* на момент постановки опыта, за срок эксперимента (1 сут) проника-

ет в растительные клетки и накапливается в них.

На рисунке 4 помимо включений серебра из нанокompозита Ag/AgCl в клетке *P. tricornutum* показана контрольная точка на участке без включений серебра и приведена спектрограмма этого контрольного участка клетки.

Методом сканирующей электронной микроскопии и световой микроскопии нами ранее [29] было выявлено воздействие наночастиц коллоидного серебра на наружную мембрану клеток микроводорослей. Коллоидное серебро приводит к изменению структуры клеточной мембраны клеток фитопланктона *S. quadricauda* и *P. tricornutum*, что, возможно, нарушает работу фотосинтетического аппарата, а так же обмен веществом и энергией клеточной мембраны с окружающей средой. Влияние нанокompозита Ag/AgCl на структуры клетки водорослей пока не выяснено.

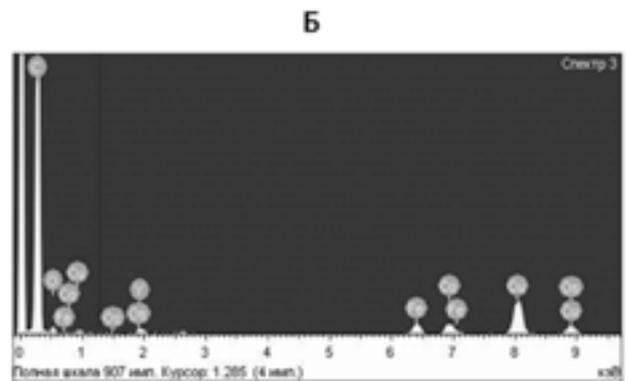
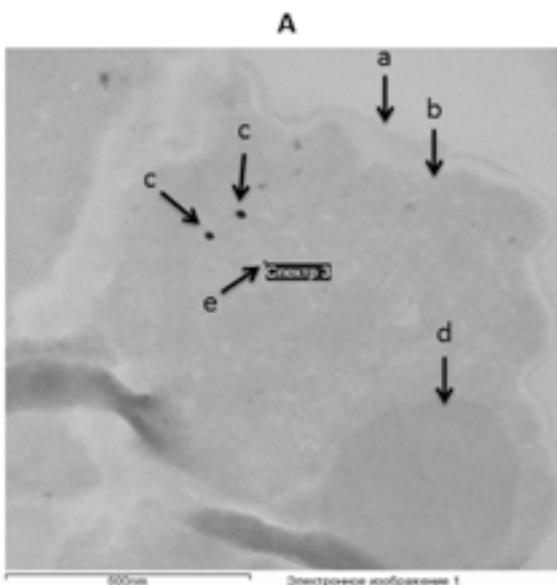


Рис. 4. Ультраструктура клетки *P. tricornutum* (А) с включением серебра из нанокompозита Ag/AgCl (а – клеточная стенка, b – клеточная мембрана, с - частицы серебра, d – жировые включения; e – контрольная точка на участке без включений серебра) и спектрограмма (Б) контрольного участка клетки

Было показано, что наночастицы коллоидного серебра оказывают прямое механическое действие на фильтрационный аппарат рачков *D. magna*, приводя к его слипанию [29]. Наноконкомпозит серебра также приводит к слипанию фильтрационного аппарата и частично проникает в выводящую камеру [5]. Для морских рачков *Artemia salina* показано, что как коллоидное серебро, так и наноконкомпозит Ag/AgCl напрямую попадают в кишечник, что приводит к гибели рачков. У личинок *Brachydanio regii* и молоди *Poecilia reticulata* установлено, что наноконкомпозит Ag/AgCl в первую очередь оказывает влияние на жабры рыб, а также наблюдается активное выделение слизи по всему телу как защитный механизм при воздействии серебра [5].

Приведенные данные литературы и наши экспериментальные данные с культурами двух видов микроводорослей позволяют считать, что

токсическое действие наноконкомпозита Ag/AgCl скорее всего обусловлено ионами серебра, диффундирующими из него в среду, поступающими в дальнейшем в клетки водорослей, где оно и депонируется.

Заключение. По полученным результатам можно заключить, что наносеребро является особо токсичным веществом и нуждается в нормировании для воды водных объектов рыбохозяйственного значения. По данным аналитической электронной микроскопии установлено, что серебро из наноконкомпозита Ag/AgCl уже через сутки попадает в клетки водорослей *S. quadricauda* и *P. tricornutum*, беспрепятственно проходя как через клеточную стенку, так и мембрану клетки. Однако не было обнаружено ни путей поступления наночастиц или ионов серебра в клетку, ни конкретных мест локализации серебра в клетке, где оно накапливалось.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.H., Park S.J., Lee H.J. et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine*. 2007; 3 (1):95-1
- Silver S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiol. Rev.* 2003; 27 (2-3):341-
- Wise J.P.Sr., Goodale B.C., Wise S.S., Craig G.A., Pongan A.F., Walter R.B. et al. Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells. *Aquat. Toxicol.* 2010; 97:34-41.
- Ivask A., Elbadawy A., Kaweeteerawat C., Boren D., Fischer H., Ji Z. et al. Toxicity Mechanisms in *Escherichia coli* Vary for Silver Nanoparticles and Differ from Ionic Silver. *ACS Nano*. 2014; 8:374-86.
- Тригуб А.Г., Соколова С.А. Сравнение чувствительности пресноводных и морских гидробионтов к коллоидному серебру и наноконкомпозиту Ag/AgCl в острых экспериментах. В кн.: Материалы Второй научной школы молодых ученых и специалистов по рыбному хозяйству и экологии «Комплексные исследования водных биологических ресурсов и среды их обитания». М.: ВНИРО; 20
- Маторин Д.Н., Тодоренко Д.А., Ленбаум В.В., Заядан Б.К. Влияние наночастиц серебра на фотосинтез зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*. *Вестник КазНУ. Сер. Биол.* 2013; 59 (3/1):274-6.
- Oukarroum A., Bras S., Perreault F., Popovic R. Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta*. *Ecotox. Environ. Safe.* 2012; 78:80-5.
- Navarro E., Piccapietra F., Wagner B., Marconi F., Kaegi R., Odzak N. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Sci. Technol.* 2008; 42:8959-64.
- Надточено В.А., Радциг М.А., Хмель И.А. Антимикробное действие наночастиц металлов и полупроводников. *Российские нанотехнологии*. 2010; 5 (5-6):37-46.
- Pal S., Tak Y.K., Song J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73 (6):1712-20.
- Miao A.J., Schwehr K.A., Xu C., Zhang S.J., Luo Z.P., Quigg A. et al. The algal toxicity of silver engineered nanoparticles and detoxification by exopolymeric substances. *Environ. Pollut.* 2009; 157 (11):3034-41.
- Miao A.J., Luo Z.P., Chen C.S., Chin W.C., Santschi P.H., Quigg A. Intracellular uptake: A possible mechanism for silver engineered nanoparticle toxicity to a freshwater alga *Ochromonas danica*. *Plos One*. 2010; 5 (12). e151
- Зарубина А.П., Деев Л.И., Пархоменко И.М., Паршина Е.Ю. Оценка токсичности ионов и наночастиц серебра методом биотестирования на модельном бактериальном объекте со светящимся фенотипом. *Российские нанотехнологии*. 2015; 10 (5-6):115-21.
- Piccapietra F., Allué C.G., Sigg L., Behra R. Intracellular silver accumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* upon exposure to carbonate coated silver nanoparticles and silver nitrate. *Environmental science & technology*. 2012; (13):7390-7.
- Ipatova V.I., Spirkina N.E., Dmitrieva A.G. Resistance of microalgae to colloidal silver nanoparticles. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2015; 62 (2):253-61.
- Richards R.M.E., Odelola H.A., Anderson B. Effect of silver on whole cells and spheroplasts of a silver resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbios*. 1984; 39 (157-158): 151-7.
- Dibrov P., Dzioba J., Gosink K.K., Hase C.C. Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag(+) in *Vibrio cholera*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46 (8):2668-70.
- Holt K.B., Bard A.J. Interaction of silver (I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag+. *Biochemistry*. 2005; 44 (39):13214-23.
- Park H.J., Kim J.Y., Kim J., Lee J.H., Hahn J.S., Gu M.B. et al. Silver-ion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. *Water Res.* 2009; 43 (4):1027-32.
- Xiong D., Fang T., Yu I., Zhu W. Effects of nano-scale TiO₂, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: acute toxicity, oxidative stress and oxidativedamage. *Sci. Total Environ.* 2011; 409 (8):1444-52.
- Klaine S.J., Alvarez P.J., Batley G.E., Fernandes T.F., Handy R.D., Lyon D.Y. et al. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2008; 27 (9):1825-51.
- Hu X., Cook S., Wang P., Hwang H.M. In vitro evaluation of cytotoxicity of engineered metal oxide nanoparticles. *Science of the Total Environment*. 2009; 407 (8):3070-72.
- Szivák I., Behra R., Sigg L. Metal-induced reactive oxygen species production in *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*. 2009; 45 (2):427-35.
- Lima R., Seabra A. B., Durán N. Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. *Journal of Applied Toxicology*. 2012; 32 (11):867-79.
- Тригуб А.Г. Влияние коллоидного наносеребра на пресноводные и морские планктонные организмы. В кн.: Петрова М.Г., ред. Теоретические и прикладные аспекты современной науки. Белгород: ИП Петрова М.Г.; 2015:123.
- Xiong D., Fang T., Yu I., Zhu W. Effects of nano-scale TiO₂, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: acute toxicity, oxidative stress and oxidativedamage. *Sci. Total Environ.* 2011; 409 (8):1444-52.
- Соколова С.А., ред. Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. М.: ВНИРО; 2011.
- Schrand A.M., Schlager J.J., Dai L., Hussai S.M. Preparation of cells for assessing ultrastructural localization of nanoparticles with transmission electron microscopy/ Nature protocols. 2010; 5 (4):744-
- Тригуб А.Г., Ипатова В.И. Особенности действия коллоидного наносеребра на организмы фито- и зоопланктона. *Экологические системы и приборы*. 2017; 4:38-49.

REFERENCES:

- Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.H., Park S.J., Lee H.J. et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine*. 2007; 3 (1):95-1
- Silver S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiol. Rev.* 2003; 27 (2-3):341-
- Wise J.P.Sr., Goodale B.C., Wise S.S., Craig G.A., Pongan A.F., Walter R.B. et al. Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells. *Aquat. Toxicol.* 2010; 97:34-41.
- Ivask A., Elbadawy A., Kaweeteerawat C., Boren D., Fischer H., Ji Z. et al. Toxicity Mechanisms in *Escherichia coli* Vary for Silver Nanoparticles and Differ from Ionic Silver. *ACS Nano*. 2014; 8:374-86.
- Тригуб А.Г., Соколова С.А. Comparison of the sensitivity of freshwater and marine hydrobionts to colloidal silver and the Ag/AgCl nanocomposite in acute experiments. In: *Materials of the Second Scientific School of Young Scientists and Specialists on Fisheries and Ecology «Comprehensive Studies of Aquatic Biological Resources and Their Habitats»*. Moscow: VNIRO; 2015 (in Russian).
- Matorin D.N., Todorenco D.A., Lenbaum V.V., Zayadan B.K. Effect of silver nanoparticles on the photosynthesis of green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bulletin of KazNU. Ser. Biol.* 2013; 59 (3/1):274-6 (in Russian).
- Oukarroum A., Bras S., Perreault F., Popovic R. Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta*. *Ecotox. Environ. Safe.* 2012; 78:80-5.

8. Navarro E., Piccapietra F., Wagner B., Marconi F., Kaegi R., Odzak N. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. Environ. Sci. Technol. 2008; 42:8959–64.
9. Nadtochenko V.A., Radtsig M.A., Khmel' I.A. Antimicrobial action of metal and semiconductor nanoparticles. Russian nanotechnologies. 2010; 5 (5–6):37–46 (in Russian).
10. Pal S., Tak Y.K., Song J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. 2007; 73 (6):1712–20.
11. Miao A.J., Schwehr K.A., Xu C., Zhang S.J., Luo Z.P., Quigg A. et al. The algal toxicity of silver engineered nanoparticles and detoxification by copolymeric substances. Environ. Pollut. 2009; 157 (11):3034–41.
12. Miao A.J., Luo Z.P., Chen C.S., Chin W.C., Santschi P.H., Quigg A. Intracellular uptake: A possible mechanism for silver engineered nanoparticle toxicity to a freshwater alga *Ochromonas danica*. Plos One. 2010; 5 (12). e151
13. Zarubina A.P., Deev L.I., Parkhomenko I.M., Parshina E.Yu. Estimation of toxicity of ions and silver nanoparticles by the method of biotesting on a model bacterial object with luminous phenotype. Russian nanotechnologies. 2015; 10 (5–6):115–21 (in Russian).
14. Piccapietra F., Allué C.G., Sigg L., Behra R. Intracellular silver accumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* upon exposure to carbonate coated silver nanoparticles and silver nitrate. Environmental science & technology. 2012; (13):7390–7.
15. Ipatova V.I., Spirikina N.E., Dmitrieva A.G. Resistance of microalgae to colloidal silver nanoparticles. Russian Journal of Plant Physiology. 2015; 62 (2):253–61.
16. Richards R.M.E., Odolola H.A., Anderson B. Effect of silver on whole cells and spheroplasts of a silver resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Microbios. 1984; 39 (157–158): 151–7.
17. Dibrov P., Dzioba J., Gosink K.K., Hase C.C. Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag(+) in *Vibrio cholerae*. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46 (8):2668–70.
18. Holt K.B., Bard A.J. Interaction of silver (I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag+. Biochemistry. 2005; 44 (39):13214–23.
19. Park H.J., Kim J.Y., Kim J., Lee J.H., Hahn J.S., Gu M.B. et al. Silver-ion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. Water Res. 2009; 43 (4):1027–32.
20. Xiong D., Fang T., Yu I., Zhu W. Effects of nano-scale TiO₂, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: acute toxicity, oxidative stress and oxidativedamage. Sci. Total Environ. 2011; 409 (8):1444–52.
21. Klaine S.J., Alvarez P.J., Batley G.E., Fernandes T.F., Handy R.D., Lyon D.Y. et al. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. Environmental Toxicology and Chemistry. 2008; 27 (9):1825–51.
22. Hu X., Cook S., Wang P., Hwang H.M. In vitro evaluation of cytotoxicity of engineered metal oxide nanoparticles. Science of the Total Environment. 2009; 407 (8):3070–72.
23. Szivák I., Behra R., Sigg L. Metal-induced reactive oxygen species production in *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae). Journal of Phycology. 2009; 45 (2):427–35.
24. Lima R., Seabra A. B., Durán N. Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. Journal of Applied Toxicology. 2012; 32 (11):867–79.
25. Trigub A.G. Influence of a colloid nanosilver on freshwater and marine planktonic organisms. In: Petrova M.G., ed. Theoretical and applied aspects of modern science. Belgorod: IP Petrova M.G.; 2015:123 (in Russian).
26. Xiong D., Fang T., Yu I., Zhu W. Effects of nano-scale TiO₂, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: acute toxicity, oxidative stress and oxidativedamage. Sci. Total Environ. 2011; 409 (8):1444–52.
27. Sokolova S.A., ed. Methodological guidelines for the development of water quality standards for water bodies of fishery importance, including standards for maximum permissible concentrations of harmful substances in the waters of water bodies of fishery importance. Moscow: VNIRO; 2011 (in Russian).
28. Schrand A.M., Schlager J.J., Dai L., Hussai S.M. Preparation of cells for assessing ultrastructural localization of nanoparticles with transmission electron microscopy/ Nature protocols. 2010; 5 (4):744–
29. Trigub A.G., Ipatova V.I. Features of the action of a colloid nanosilver on organisms of phyto- and zooplankton. Ecological systems and devices. 2017; 4:38–49 (in Russian).

A.G. Trigub¹, V.I. Ipatova²

INFLUENCE OF NANOCOMPOSITE Ag/AgCl ON THE CULTURE OF MICROALGAE SCENEDESMUS QUADRICAUDA AND PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM

¹All-Russian Research Institute of Fishery and Oceanography, 107140, Moscow, Russian Federation

²M.V. Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation

The toxicity of the Ag/AgCl nanocomposite was evaluated at different concentrations in chronic experiments for 41 days using standard freshwater and marine plant test organisms of *Scenedesmus quadricauda* (0.05, 0.1, 0.5 and 1.0 mg/l) and *Phaeodactylum tricorutum* (0.25, 0.5, 1.0, and 2.0 mg/L). Comparative sensitivity of test organisms in acute experiments (72 hours) in terms of LC₅₀ was carried out. It was established that the green alga of *S. quadricauda* is more sensitive to the Ag/AgCl nanocomposite (LC₅₀ = 0.02 mg/l) than the marine diatomea *P. tricorutum* (LC₅₀ = 0.3 mg/l). The greatest algicidal effect on the growth of *S. quadricauda* culture was provided by the nanocomposite in concentrations of 1 and 0.5 mg/l, at which the culture did not grow during the experiment. And at concentrations of 0.1 and 0.05 mg/l the algostatic effect was observed for 10 and 1 days, respectively, after which the culture resumed growth. In the culture of *P. tricorutum* at concentrations of 1.0 and 2.0 mg/l there was a prolonged inhibition of growth, but after 25 days at 1.0 mg/l the number of cells began to increase. In the presence of 0.5 mg/l the culture resumed growth after 4 days of lag phase and overtook the number of control. At the concentration of 0.25 mg/l the growth of *P. tricorutum* was either at or above the control level. The difference in the response of the two species of algae can be explained both by the individual feature of the species and by the more complex composition of the marine nutrient medium, which reduces the toxicity of the nanocomposite. According to analytical electron microscopy silver from Ag/AgCl nanocomposites within a day falls inside the cells of *S. quadricauda* and *P. tricorutum* algae, passing unimpeded both through the cell wall and the cell membrane.

Keywords: *Scenedesmus quadricauda*, *Phaeodactylum tricorutum*, nanocomposite Ag/AgCl, toxicity.

Материал поступил в редакцию 28.03.2018 г.

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 613.63

ПРЕПАРАТ «ФИТАЗА»

*Н.И. Шеина, В.А. Паршин, Л.И. Мясина,
Л.П. Сазонова, В.В. Колесникова*

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация

Препарат Фитаза малотоксичен, не обладает раздражающим и сенсибилизирующим действием. Порог острого ингаляционного действия препарата установлен на уровне 28,0 мг/м³ (по фитазе) по изменению функционального состояния нервной системы и почек. ОБУВ препарата «Фитаза» в воздухе рабочей зоны рекомендован на уровне 1.0 мг/м³ (по фитазе), в атмосферном воздухе населенных мест – 0.02 мг/м³, агрегатное состояние - аэрозоль.

Ключевые слова: фитаза, токсичность, гигиенические нормативы

Фитазы (мио-инозитол-1,2,3,4,5,6-гексакисфосфат-фосфогидролазы) – группа ферментов, относящиеся к классу гидролаз и подклассу фосфатаз, которые катализируют гидролиз моноэфиров фосфорной кислоты. Фитазы осуществляют ступенчатое отщепление ортофосфат-ионов от фитиновой кислоты с образованием в качестве промежуточных продуктов пента-, тетра-, три-, ди- и монофосфатов инозитола.

В соответствии с Международной номенклатурой ферментов IUPAC-IUBMB различают три типа фитаз: 3-фитазы, 5-фитазы и 4/6-фитазы. 3-Фитаза начинает свою работу с отщепления фосфорной группы на третьем атоме углерода инозитного кольца, 5-фитаза – с отщепления фосфорной группы на пятом атоме углерода, а 4/6 - с отщепления фосфорной группы на четвертом или шестом атоме углерода.

К сожалению, фитазы практически не вырабатываются в пищеварительном тракте свиней, птицы и других животных с однокамерным желудком (моногастричные животные).

Микробиологическая наука нашла эффективные штаммы микроорганизмов, продуцирующие фермент фитазу в больших количествах и с

повышенной активностью по отношению к фитинам растительных кормов.

Механизм действия всех известных кормовых препаратов фитаз сводится к воздействию фермента на химические связи инозитола с остатками фосфорной кислоты. В результате образуется шестиатомный спирт и соли фосфорной кислоты. Причём образованные продукты расщепления хорошо растворимы в соляной кислоте желудка и кишечном содержимом.

Инозитол подвергается изомеризации до глюкозы и практически полностью всасывается в тонком кишечнике с достаточной энергетической пользой для организма. Соли фосфорной кислоты, в том числе и органические остатки, диссоциируют с образованием ионов металлов и свободных аминокислот. Это означает, что содержащиеся в кормах кальций, железо, марганец, цинк, медь становятся доступнее на 9,7-12,2%. Степень использования самого фосфора растительных кормов повышается как минимум на 8,8-10,74% от абсолютной его концентрации в исходном кормовом продукте. В некоторых опытах при применении эффективных препаратов фитаз степень усвоения фосфора растительных

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natal'ja Ivanovna), д.б.н., профессор, профессор кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, ni_sheina@mail.ru

Паршин Валерий Александрович (Parshin Valerij Aleksandrovich), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник кафедры молекулярной фармакологии ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, г. Москва, vparshin@mail.ru

Мясина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), к.м.н., доцент, доцент кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, rsmu.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), к.м.н. старший преподаватель кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), к.м.н., старший преподаватель кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, rsmu.ru

кормов удавалось поднимать с 22,1 до 53,7 и с 41 до 65,2%. Доказано, что попутно с этим благодаря действию фитазы повышается доступность метионина - в границах 0,38-2,09%, и лизина - в границах 0,76-1,33%. Опосредованно фитазное расщепление растительных соединений фосфора способствуют повышению эффективности использования витамина А, Е и В₂.

Препарат «Фитаза» состоит из фитазы активностью 50 000 ед/г, полученной путем глубинного культивирования штамма-продуцента *Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ У-4225, и пшеничной муки в соотношении 1:2.

Формой выпуска является сухой мелкодисперсный порошок желтовато-зеленоватого цвета. Для моногастричных животных планируемой нормой ввода фитазы 50 000 ед/г является доза 8-12 г на 1 т комбикорма.

Препарат не взрывоопасен, термостабилен, выдерживает режимы гранулирования кормов, совместим со всеми ингредиентами кормов, фитаза хорошо растворяется в воде.

Хранится препарат в сухом, защищенном от света, проветриваемом помещении при температуре от -30°C до +25°C и влажности от 30% до 75%. Проведенные экспериментальные исследования показали, что препарат «Фитаза» является малотоксичным веществом при введении в желудок. DL₅₀ для белых мышей превышает 5000 мг/кг, DL₅₀ для крыс составляет 6120 мг/кг (4 класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76).

Препарат «Фитаза» обладает слабым раздражающим действием на слизистые оболочки глаз, не раздражает кожу при повторных аппликациях. Кожно-резорбтивного действия не выявлено. При повторном введении в желудок слабо кумулирует в организме.

Сенсибилизирующее действие препарата «Фитаза» методом ГЗТ не выявлено.

Для определения Lim_{ac} пыли препарата «Фитаза» были испытаны 3 концентрации: 47,1±4,1; 28,0±3,2 и 16,7±2,4 мг/м³ (по фитазе). У крыс регистрировали показатели функционального состояния нервной, дыхательной и выделительной систем, печени, определяли состав периферической крови.

Порог острого ингаляционного действия пыли препарата «Фитаза» установлен на уровне 28,0±3,2 мг/м³ (по фитазе) по изменению функционального состояния нервной системы и почек.

К настоящему моменту гигиенические нормативы (ПДК и ОБУВ) в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест установлены для более 30 ферментов и их мультиэнзимных композиций. Среди них к гидролазам относятся пектинлиаза (пектиназа), целлюлаза, ксиланаза, β-глюканаза и др. Параметры токсикометрии ферментов, наиболее близких по характеру токсического действия к фитазе суммированы в таблице.

Как следует из приведенных данных, Lim_{ac} фитазы практически совпадает с Lim_{ac} ксиланазы и в 2 раза выше по сравнению с Lim_{ac} мацеробациллина. При этом ПДК в воздухе рабочей зоны ксиланазы составляет 1.0 мг/м³, а ОБУВ мацеробациллина – 2.0 мг/м³. Следует отметить, что Lim_{ac} для приведенных веществ также как и для фитазы установлены по изменению общетоксических показателей, отражающих функциональное состояние нервной системы и почек.

На основании проведенных расчетов и по аналогии с ранее нормированными ферментами в качестве ОБУВ пыли препарата «Фитаза» в воздухе рабочей зоны рекомендован 1.0 мг/м³ (по фитазе), в атмосферном воздухе населенных мест – 0.02 мг/м³, агрегатное состояние - аэрозоль. Разработан метод контроля препарата в воздухе рабочей зоны по фитазе методом жидкостной хроматографии.

Таблица

Параметры токсикометрии некоторых ферментов (гидролаз), используемых в промышленности

Название фермента	Lim _{ac} , мг/м ³	ПДК/ОБУВ, мг/м ³ , воздух рабочей зоны	ОБУВ, мг/м ³ , атмосферный воздух
Ксиланаза	30	1.0, 2 класс опасности	0.01
Мацеробациллин	57	2.0	0.02
Фитаза	28,0	1.0 (рекомендованный)	0.01

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бидевкина М.В., Скрябина Э.Г., Поздняков В.С. Лиманцев А.В., Шеина Н.И., Гуля Е.Б., Иванов Н.Г. Ксиланаза // Токсикологический вестник. - 2003. - №1. - С. 48.
2. Иванов Н.Г., Поздняков В.С., Шеина

Н.И., Бидевкина М.В., Лиманцев А.В., Гуля Е.Б., Скрябина Э.Г. Мацеробациллин ГЗх // Токсикологический вестник. - 2001. - №6. - С. 41.
3. Методические указания по установлению ориентировочных безопасных

уровней воздействия вредных веществ в воздухе рабочей зоны. МУ № 4000-85. - М., МЗ СССР, 1985. - 35 с.
4. Смит А. Фитаза в рационах свиней и птиц. // Животноводство России. - 2015. - №12. - С.58-59

5. Труфанов О. Фитаза в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы. Киев: Полиграфинко, 2011. - 112 с.

REFERENCES:

1. Bidevkina M.V., Scryabina E.G., Pozdnyakov V.S., Limantsev A.V., Sheina N.I., Guglya E.B., Ivanov N.G. Xylanase // Toxicological bulletin. - 2003. - № 1. - P. 48 (in Russian).
2. Ivanov N.G., Pozdnyakov V.S., Sheina N.I., Bidevkina M.V., Limantsev A.V., Guglya E.B., Scryabina E.G. Macerobacillin GZx // Toxicological bulletin. - 2001. - № 6. - P. 41 (in Russian).
3. Methodological guidelines for establishing indicative safe levels of exposure to harmful substances in the air of the work area. № 4000-85. - M., Ministry of Health of the USSR, 1985. - 35 p. (in Russian).
4. Smith A. Phytase in rations of pigs and birds. // Animal husbandry of Russia. - 2015. - № 12. - P. 58-59 (in Russian).
5. Trufanov O. Phytase in the feeding of farm animals and poultry. Kiev: PolygraphInco, 2011. - 112 p. (in Russian).

N.I. Sheina, V.A. Parshin, L.I. Mjalina, L.P. Sazonova, V.V. Kolesnikova

PREPARATION «PHYTASE»

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

The preparation "Phytase" is low-toxic, does not have an irritant and sensitizing effect. The threshold of acute inhalation of the preparation is set at the level of 28.0 mg/m³ (on phytase) according to the change in the function of the nervous system and kidneys. Indicative safe exposure level of the preparation "Phytase" in the air of the working area is recommended to be 1.0 mg/m³ (according to phytase), in the atmospheric air of populated areas - 0.02 mg/m³, the aggregate state is aerosol.

Keywords: phytase, toxicity, hygienic standards.

Материал поступил в редакцию 9.11.2017 г.

УДК 615.099

ОЦЕНКА ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ И ДИНАМИКИ ПРИБАВКИ ВЕСА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ПОСТУПЛЕНИИ СМЕШАННОГО ОКСИДА ОБЕДНЕННОГО УРАНА С ВОДОЙ

Д.В. Герасимов

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России» (Сеченовский университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

Приведен эксперимент по изучению пищевого поведения и динамики прибавки веса у экспериментальных животных (крыс) после однократного перорального поступления смешанного оксида обеднённого урана ($U_3O_8 + UO_2$) с водой. Показано, что при поступлении обеднённого урана в организм пищевое поведение грызунов усиливается, возможно из-за прямой нейротоксичности соединений урана, а также нарушения метаболизма нейротрансмиттеров в головном мозге. В то же время токсическое действие соединений урана на органы желудочно-кишечного тракта возможно является причиной возникновения синдрома мальабсорбции, который обуславливает снижение прибавки веса у животных.

Ключевые слова: обеднённый уран, пищевое поведение, головной мозг, инкорпорация.

Введение. В настоящее время развитыми странами накоплено большое количество радиоактивных материалов, являющихся отходами атомной энергетики, большую часть которых составляет обеднённый уран (ОУ). До сих пор тщательно проработанной технологии переработки этих материалов не существует, в то время как безопасность человека и окружающей среды на-

ходится под угрозой и требует однозначных решений. Утилизация ОУ путём его использования в военных целях является наиболее экономически целесообразной и с успехом применяется развитыми странами уже более 20 лет. В настоящее время бронебойные средства поражения с ударниками из обеднённого урана стоят на вооружении армий различных стран и используются в

локальных войнах (Ирак, 1991, 2003 гг.; Босния и Герцеговина, 1994–1995 гг.; Косово и Метохия, 1999 г.; Афганистан, 2001–2003 гг.; Ливия, 2011 г., Сирия, 2015 г.) [1,2,3].

Попадание соединений урана в объекты окружающей среды в результате подрыва боеприпаса и их, сравнительно быстрое, перемещение по трофическим цепям существенно повышает риск радиотоксических эффектов ОУ в организме человека. Применение вооружения с ОУ, возможно, одна из причин возникновения «особого синдрома», сопровождающегося неврологическими нарушениями и отклонениями в деятельности дыхательной, пищеварительной систем у ветеранов боевых действий и мирного населения [4,5,6,7].

Уран и его соединения радиоактивны и химически токсичны. Согласно исследованиям токсикокинетики ОУ, при пероральном поступлении в организм только около 1% соединений урана всасывается в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), распределяясь затем по органам и тканям. Основные депо в организме – это селезёнка, почки, скелет, гонады, печень. Уран практически необратимо, как и многие другие тяжелые металлы, проявляет свою химическую токсичность, связываясь с сульфидными группами аминокислот, нарушая функции белков и подавляя активность ферментов. Признаками острой интоксикации соединениями урана является поражение почек, хронической – нарушения кроветворения и функций нервной системы [7,8,9,10].

Целью настоящего исследования являлось изучение пищевого поведения и динамики прибавки веса экспериментальных животных (крыс) после однократного перорального поступления в организм смешанного оксида ОУ с водой.

Материалы и методы исследования. В основу эксперимента положены литературные данные о возможной дозе перорального поступления ОУ в организм военнослужащих и местного населения с пищей и водой на территориях боевых действий, исключая ингаляционное поступление, что могло составить 36–100 мг/человека (75 кг) [1,2]. В связи с этим был сделан расчет средней дозы смешанного оксида ОУ для введения крысам (1 мг/кг).

В эксперименте 120 половозрелым крысам-самцам однократно перорально вводили водный раствор смешанного оксида обедненного урана ($U_3O_8 + UO_2$) из расчета 1 мг/кг массы тела, причём опытным группам соответствовал адекватный биологический контроль.

Учитывая токсикокинетику соединений урана в организме [4,10,11], через 10 сут и далее через каждые 30 сут до конечной точки 190 сут после введения ОУ проводилось изучение пищевого поведения и динамики прибавки веса у экспериментальных животных. Пищевое поведение

– это наиболее тщательно изученная форма поведения, которая является основной моделью мотивированного поведения вообще. Количество потреблённой пищи измерялось путём взвешивания корма на весах и вычислением разницы между весом корма при закладке и остатком по истечении суток в граммах. Потребление воды оценивалось как разница между количеством воды в поильнике при его заполнении и остатком через сутки в миллилитрах. Для расчёта использовались объёмной шкалой поильника. Измерения проводились для каждой группы животных в течение 3 сут в каждый срок исследования, затем усреднялись и, учитывая, средний вес животных в клетке производился расчёт потреблённых пищи и воды в граммах и миллилитрах на 1 кг массы тела животного соответственно. Потери воды и корма не связанные с потреблением животными при расчётах не учитывались.

Оценивая прибавку массы тела животного животных на всём протяжении эксперимента можно судить: о динамике состояния центральных механизмов регуляции пищевого поведения, о характеристиках общего обмена, а также об изменениях функции пищеварения и состоянии органов ЖКТ. Взвешивание животных производилось на торговых весах, каждой особи отдельно, с последующим расчётом среднего веса для групп сравнения.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием параметрических критериев пакетов программ Microsoft Excel 2010, Statistica 7.0 в операционной среде Windows 7. Для оценки достоверности различия величин между группами сравнения использовали t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение. Поведенческие реакции отображают функциональное состояние важнейших систем организма и, в первую очередь, состояние центральной нервной системы (ЦНС). Общеизвестно, что важная роль в формировании чувства голода и жажды принадлежит активизации совокупности нервных образований в разных отделах головного мозга (гипоталамо-лимбико-ретикуло-кортикальные отделы), основными функциями которых являются мотивация жажды и формирование пищевого поведения, направленного на поиск и прием пищи, а также регуляция и функциональная интеграция органов пищеварительной системы [8,12]. ОУ, обладая свойствами сильных оксидантов, способен проникать через гематоэнцефалический барьер в структуры головного мозга и подавлять активность различных ферментов, гормонов и медиаторов ЦНС, в частности серотонина [5,8,13,14].

В эксперименте было выявлено статистически достоверное увеличение количества потреблённой пищи и воды животными опытной группы

к 70 сут исследования на 16,3% и 14,2% соответственно (табл. 1) по сравнению с группой биологического контроля ($p < 0,05$).

Указанные изменения, скорее всего, обусловлены высокой интенсивностью центральных влияний, связанных с нейротоксичностью ОУ, т.е. возбуждением ответственных структур мозга (гипоталамус, средний мозг, таламус), комплекс сенсорных сигналов которых может усиливать пищевое поведение [8,13].

В то же время к 70 сут исследования отмечалось статистически достоверное снижение прибавки веса на 5,6% у животных опытной группы (табл. 1) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), что, скорее всего, было обусловлено поражением ОУ органов ЖКТ с возникновением синдрома мальабсорбции.

Известно, что воздействие ОУ на пищеварительный тракт может проявляться воспалительными процессами в кишечнике, снижением синтеза и экскреции желчных кислот в печени не-

обходимых для пищеварения и всасывания липидов [9,10,11]. Поскольку липидами обеспечивается около 50% потребности в калориях, нарушение этого процесса может иметь серьезные последствия для роста и общего состояния организма.

В остальные сроки исследования между точками измерений достоверно значимых различий в группах сравнения не отмечалось ($p > 0,05$).

Выводы.

1. При однократном поступлении смешанного оксида ОУ внутрь с водой, пищевое поведение грызунов временно усиливается, возможно, вследствие прямой оксидантной активности соединений урана в отношении структур головного мозга и/или нарушения метаболизма нейротрансмиттеров.

2. Токсическое воздействие ОУ на органы ЖКТ при поступлении внутрь, возможно выступает причиной возникновения синдрома мальабсорбции и обуславливает временное снижение прибавки веса животными.

Таблица 1

Количество потребленных животными пищи и воды, прибавка веса

сутки эксперимента	группы животных	среднее количество корма в сутки (г/кг)		среднее количество воды в сутки (мл/кг)		средний вес животных (г)	
		x ± SD	p	x ± SD	p	x ± SD	p
10	К	104,3±6,2	0,930	117,2±11,1	0,410	282,0±29,6	0,052
	О	103,9±3,6		123,8±10,0		266,4±30,9	
40	К	93,1±3,7	0,817	120,2±5,7	0,233	309,5±35,4	0,061
	О	93,8±4,2		126,8±8,3		294,3±32,1	
70	К	67,4±4,1	0,004	93,9 ± 6,5	0,013	366,2±32,8	0,038
	О	79,6±3,5		109,4±6,1		346,0±24,1	
100	К	73,2±5,7	0,694	84,7±4,7	0,856	386,8±31,8	0,635
	О	75,1±7,1		83,9±7,3		383,0±28,6	
130	К	57,2±3,9	0,551	72,5±4,8	0,888	420,5±33,8	0,851
	О	55,8±2,3		72,1±3,3		418,9±29,3	
160	К	54,4±5,4	0,223	79,9±6,2	0,582	422,2±37,4	0,377
	О	58,5±2,9		82,7±7,6		430,5±33,9	
190	К	49,7±3,1	0,708	65,7±7,4	0,430	442,7±51,3	0,317
	О	48,9±2,9		62,4±2,8		454,3±33,9	

Примечание: К – контрольная группа, О – опытная группа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Eldagmah M. Radiation doses arising from depleted uranium shells. *Environmental Science, ESAU*. 2015; 10(7): 249–253.
- Заключение специалистов межведомственной группы экспертов по рассмотрению последствий применения силами НАТО в Югославии боеприпасов с обеднённым ураном. / Совместный Приказ Минатом РФ, МО РФ и Минздрава РФ (№ 96/81/53 от 22.02.2001.). М.: 2001.
- Oakford S. The United States Used Depleted Uranium in Syria. *Foreign Policy*, 2017. Available at: <https://foreignpolicy.com/2017/02/14/the-united-states-used-depleted-uranium-in-syria>
- Pititot F., Lestaevél P., Tourionias E. et al. Inhalation of uranium nanoparticles: Respiratory tract deposition and translocation to secondary target organs in rats. *Toxicol. Lett.* 2013; 1: 217–225.
- Shaki F., Hosseini M., Ghazi-Khansari M. et al. Depleted uranium induces disruption of energy homeostasis and oxidative stress in isolated rat brain mitochondria. *Metallomics*. 2013; (5): 736–744.
- Tasat D.R., Orona N.S., Bozal C. et al. Intercellular Metabolism of Uranium and the Effects of Bisphosphonates on Its Toxicity. In *Cell Metabolism-Cell Homeostasis and Stress Response*. Tech Publishers: Rijeka, Yugoslavia. 2012.
- Hon Z., Österreicher J., Navrátil L. Depleted Uranium and Its Effects on Humans. *Sustainability*. 2015; (7): 4063–4077.
- Герасимов Д.В. Анализ функциональных изменений центральной нервной системы грызунов при однократном поступлении смешанного оксида обеднённого урана с водой. *Токсикологический вестник*, Москва. 2017; (1): 42–46.
- Gueguen Y., Rouas C., Monin A. et al. Molecular, cellular and tissue impact of depleted uranium xenobiotic-metabolizing enzymes. *Arch. Toxicol.* 2013.
- Калистратова В.С., ред. Радиобиология инкорпорированных радионуклидов. М.: ГНЦ РФ ФГБУ «ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России»; 2012.
- Katz S.A. The Chemistry and Toxicology of Depleted Uranium. *Toxics*. 2014; (2): 50–78.
- Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения (перевод с англ.). М.: Высшая школа; 1991.

13. Barillet S., Adam C., Palluel O., Devaux A. Bioaccumulation, oxidative stress and neurotoxicity in Danio Rerio exposed to

REFERENCES:

1. Eldaghmah M. Radiation doses arising from depleted uranium shells. *Environmental Science, ESAJ*. 2015; 10(7): 249–253.
 2. The conclusion of the interdepartmental expert group on consideration of the effects of the use of NATO forces in Yugoslavia of depleted uranium munitions. *Sovmestnyi Prikaz Ministra RF po atomnoi energii, Ministra oborony RF i Ministra zdoravookhraneniya RF* (№ 96/81/53 ot 22.02.2001.) M.: 2001 (in Russian).
 3. Oakford S. The United States Used Depleted Uranium in Syria. *Foreign Policy*, 2017. Available at: <https://foreignpolicy.com/2017/02/14/the-united-states-used-depleted-uranium-in-syria>
 4. Plitot F., Lestaevel P., Tourionias E. et

different isotopic compositions of uranium. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2007; 26(3): 497–505.

al. Inhalation of uranium nanoparticles: Respiratory tract deposition and translocation to secondary target organs in rats. *Toxicol. Lett.* 2013; 1: 217–225.
 5. Shaki F., Hosseini M., Ghazi-Khansari M. et al. Depleted uranium induces disruption of energy homeostasis and oxidative stress in isolated rat brain mitochondria. *Metallomics*. 2013; (5): 736–744.
 6. Tasat D.R., Orona N.S., Bozal C. et al. Intercellular Metabolism of Uranium and the Effects of Bisphosphonates on Its Toxicity. In *Cell Metabolism-Cell Homeostasis and Stress Response*. Tech Publishers: Rijeka, Yugoslavia. 2012.
 7. Hon Z., Österreicher J., Navrátil L. Depleted Uranium and Its Effects on Humans.

14. Lestaevel P., Airault F., Racine R. et al. Influence of environmental enrichment and depleted uranium on behaviour, cholesterol

Sustainability. 2015; (7): 4063–4077.
 8. Gerasimov D.V. Analysis of functional changes in the central nervous system of rodents with a single receipt of a mixed oxide depleted uranium with water. *Toksikologicheskij vestnik, Moskva*. 2017; (1): 42–46 (in Russian).
 9. Gueguen Y., Rouas C., Monin A. et al. Molecular, cellular and tissue impact of depleted uranium xenobiotic-metabolizing enzymes. *Arch. Toxicol.* 2013.
 10. Kalistratova V.S. red. Radiobiology of incorporated radionuclides. M.: Izd-vo FMBA im. A.I. Burnazyana FMBA Rossii; 2012 (in Russian).
 11. Katz S.A. The Chemistry and Toxicology of Depleted Uranium. *Toxics*. 2014; (2): 50–78.

and acetylcholine in apolipoprotein E-deficient mice. *J. Mol. Neurosci.* 2013;(1): 31–38.

12. Buresh YA., Bureshova O., H'yuston D. Techniques and basic experiments for study of brain and behavior. M.: Vysshaya shkola. 1991 (in Russian).
 13. Barillet S., Adam C., Palluel O., Devaux A. Bioaccumulation, oxidative stress and neurotoxicity in Danio Rerio exposed to different isotopic compositions of uranium. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2007; 26(3): 497–505.
 14. Lestaevel P., Airault F., Racine R. et al. Influence of environmental enrichment and depleted uranium on behaviour, cholesterol and acetylcholine in apolipoprotein E-deficient mice. *J. Mol. Neurosci.* 2013;(1): 31–38.

D.V. Gerasimov

ASSESSMENT OF EATING BEHAVIOR AND DYNAMIC OF WEIGHT GAIN OF EXPERIMENTAL ANIMALS WITH A SINGLE RECEIPT OF THE MIXED OXIDE OF DEPLETED URANIUM WITH WATER

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

The experiment on the study of food behavior and the dynamics of weight gain in experimental animals (rats) after single oral intake of the mixed oxide of depleted uranium ($U_3O_8 + UO_2$) with water is given. It is shown that when depleted uranium enters the body, rodent eating behavior increases possibly due to direct neurotoxicity of uranium compounds, as well as impaired metabolism of neurotransmitters in a brain. At the same time, the toxic effect of uranium compounds on the organs of the gastrointestinal tract is probably the cause of malabsorption syndrome, which causes a decrease in weight gain in animals.

Keywords: depleted uranium, food behavior, brain, incorporation.

Материал поступил в редакцию 23.10.2017 г.

СЪЕЗДЫ И КОНФЕРЕНЦИИ

СУБРЕГИОНАЛЬНАЯ КОНСУЛЬТАТИВНАЯ ВСТРЕЧА НАЦИОНАЛЬНЫХ НАЗНАЧЕННЫХ ОРГАНОВ РОТТЕРДАМСКОЙ КОНВЕНЦИИ О ПРОЦЕДУРЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ОБОСНОВАННОГО СОГЛАСИЯ В ОТНОШЕНИИ ОТДЕЛЬНЫХ ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ И ПЕСТИЦИДОВ В МЕЖДУНАРОДНОЙ ТОРГОВЛЕ

21.02 - 23.02. 2018 г. в Тбилиси (Грузия) Секретариатом Роттердамской конвенции была организована субрегиональная консультативная встреча Национальных назначенных органов по использованию инструментов Роттердамской конвенции о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдель-

ных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле при составлении финальных регуляторных актов.

В встрече приняли участие представители национальных назначенных органов и правительственных организаций Российской Федерации, Грузии, Армении, Сербии. Российскую Федера-

цию представляли: сотрудник Роспотребнадзора Мухина О. Ю., ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора – национальный назначенный орган Роттердамской конвенции РФ Хамидулина Х. Х., Дорофеева Е. В., сотрудник Минздрава России Чуприна О. В., ФГБНУ «НИИ медицины труда им. Н.Ф.Измерова» РАН Ковалевский Е. В., ФГБУ «ВНИИ охраны окружающей среды» Минприроды России Соловьев А. А.

Целью субрегиональной консультативной встречи Национальных назначенных органов было ознакомление с инструментами Роттердамской конвенции по повышению эффективности заполнения финальных регуляторных актов на вещества, включенные в приложение Ш, а также с деятельностью в этой области на национальном уровне.

В рамках программы Национальными назначенными органами стран -участников были сделаны презентации, отражающие законодательную и нормативно-правовую базу осуществления обязательств по исполнению конвенций; вовлеченные структуры; национальную систему по выявлению особо опасных промышленных веществ и пестицидов с целью запрещения или ограничения на национальном и международном уровнях; исполнение обязательств по предоставлению в Секретариат конвенции финальных регуляторных актов по веществам, включенным в приложение Ш. Презентация от Российской Федерации, подготовленная сотрудниками Роспотребнадзора, была сделана директором ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора Хамидулиной Х. Х.

Из 51 вещества, включенного в Приложение Ш, Российской Федерацией представлены финальные акты на 37 веществ и пестицидов, имеющих запрещения и ограничения на национальном уровне и в рамках ЕЭС. Оставшиеся 14 веществ разрешены в РФ. Вместе с тем, Секретариатом конвенции было предложено предоставить финальные акты с временным решением до тех пор пока в стране не будут приняты решения о запрещении или ограничении.

Кроме того, Секретариат попросил страны доложить о мониторинге и механизмах принятия решения о запрещении или ограничении химических веществ и пестицидов. В Российской Федерации в настоящее время для выявления особо опасных веществ Роспотребнадзором осуществляется социально-гигиенический мониторинг, а также мониторинг случаев острых отравлений в быту и в производственных условиях, Информационно-консультативным центром острых отравлений Минздрава России осуществляется сбор инфор-

мации о случаях отравления; ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора обладает обширной информацией о веществах. Вместе с тем, в РФ отсутствует национальный перечень запрещенных к производству и использованию химических веществ, определенный потребностью государства предотвратить негативное воздействие опасных химических факторов на население и окружающую среду, а также действенный механизм, позволяющий пополнять указанный перечень с учетом национальных приоритетов и международных стандартов. В то же время в европейских странах национальные списки запрещенных к производству и использованию химических веществ отличаются в ряде стран, имеют более широкий перечень, чем перечень веществ, включенных в Приложение Ш Роттердамской конвенции и определяются приоритетами национальной политики и экономики.

Таким образом, в целях исполнения обязательств по Роттердамской конвенции считаем необходимым:

- рассмотреть и утвердить порядок обеспечения ведения федерального регистра потенциально опасных химических и биологических веществ в рамках предварительного обоснованного согласия для обеспечения выполнения обязательств Российской Федерации, вытекающих из Роттердамской конвенции о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле от 10 сентября 1998 г. во исполнении постановления Правительства Российской Федерации от 26.01.2012 № 22 «О мерах по обеспечению выполнения обязательств Российской Федерации, вытекающих из Роттердамской конвенции о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле от 10 сентября 1998 г.»;

- подготовить и направить в Секретариат Роттердамской конвенции финальные нотификации с временным решением на оставшиеся 14 опасных химических веществ из приложения Ш (вещества подпадающие под процедуру предварительного обоснованного согласия);

- совместно с заинтересованными ФОИВ создать действенный механизм по выявлению и запрещению химических веществ и пестицидов, обладающих высокой степенью опасности для здоровья человека и среды его обитания, а также национальный перечень запрещенных и строго ограниченных веществ.

*Хамидулина Х.Х.
ФБУЗ «Российский регистр потенциально
опасных химических и биологических
веществ» Роспотребнадзора*

НЕКРОЛОГ

ПАМЯТИ ВАЛЕНТИНА БОРИСОВИЧА ПРОЗОРОВСКОГО (1930 – 2018)

Командование Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, токсикологи и фармакологи Института с глубоким прискорбием извещают о смерти одного из основателей отечественных школ по созданию антитов высокотоксичных отравляющих веществ доктора медицинских наук, профессора, лауреата Государственной премии СССР, заслуженного деятеля науки Российской Федерации Валентина Борисовича Прозоровского, последовавшей 04 марта 2018 г.

В.Б. Прозоровский родился 28 сентября 1930 г. в Воронеже и в 1936 г. с родителями переехал в Ленинград, где в тяжелые годы блокады будучи школьником (1941-1942 гг.) воочию видел и ощущал все горести и тяготы войны. Обучение в школе удалось продолжить только по возвращению из эвакуации. В 1954 г. он закончил с отличием Ленинградский педиатрический медицинский институт (ЛПМИ) и в том же году поступил в аспирантуру при кафедре фармакологии, руководимой академиком АМН СССР В.М. Карасиком. На третьем курсе обучения В.Б. Прозоровский был переведен на должность ассистента кафедры и начал педагогическую деятельность, а в последующем через два года направлен в Институт токсикологии МЗ СССР, где стал активно заниматься научно-исследовательской работой. Здесь в 1959 г. он защитил кандидатскую диссертацию «Проблемы антагонизма антихолинэстеразных и холинолитических средств у животных различного возраста». В.Б. Прозоровским в эксперименте были установлены возрастные отличия как по выносливости животных к изучаемым веществам, так и по выраженности антагонизма между ними. Было отмечено, что антихолинэстеразные средства кроме основного эффекта могут оказывать преимущественное влияние на М- и Н-холинореактивные системы. На примере использования атропина при отравлении



животных прозерпином были получены данные, которые в настоящее время трактуются как феномен гормезиса (восстановление эффекта с уменьшением дозы). Отмечено, что этот феномен постепенно исчезает по мере старения животных. В последующем В.Б. Прозоровский был приглашен для организации и заведования кафедрой фармакологии в Петрозаводский государственный университет, где он продолжил в течение 3-х лет вести педагогическую и научную деятельность.

В этот период работы В.Б. Прозоровский с учениками занимался изучением электро-

физиологии мозга и нервно-мышечных соединений. Им было установлено, что в соматосенсорной зоне коры больших полушарий мозга амплитуда первичного ответа, вызываемого возбуждением рецепторов разной модальности, находится под тоническим реципрокным тормозным влиянием М- и активирующим влиянием Н-холинореактивных вставочных нейронов. В те же годы В.Б. Прозоровским была обнаружена зависимость между стимулирующим эффектом антихолинэстеразных средств при парезе кишечника и температурой среды.

В связи с избранием на должность заведующего Центральной научно-исследовательской лаборатории Педиатрического медицинского института с задачей её организации и руководства В.Б. Прозоровский вернулся в Ленинград и возобновил работы по возрастной токсикологии, исследовал вопросы, связанные с поведенческой тератологией. Им были предложены новые термины, такие как «широта тератогенного действия». Работы по возрастной токсикологии представлены в трех монографиях «Отравления в детском возрасте», изданных в 1971, 1978 и 1999 гг. Научные изыскания в лаборатории В.Б. Прозоровский сочетал с чтением лекций по токсикологии для студентов на военной кафедре института. Он также читал лекции и вел занятия в Санитарно-гигиеническом институте им. И.И. Мечникова на курсах повышения квалификации преподавателей кафедр фармакологии страны.

В докторской диссертации «Вопросы механизма действия и возрастной токсикологии антихолинэстеразных средств» (1969 г.) В.Б. Прозоровским было доказано, что практически все вещества, именуемые обычно антихолинэстеразными, в той или иной мере, в зависимости от концентрации, объекта, условий и времени на-

блюдения проявляют также неантихолинэстеразное влияние на конечный эффект. Описано воздействие ФОС на освобождение медиатора (усиление или торможение), чувствительность постсинаптических рецепторов (сенситизация или десенситизация) и прямое рецепторное (активирующее или блокирующее) действие. Таким образом конечный биологический эффект фосфорорганических ингибиторов холинэстеразы определяется суммацией, потенцированием или антагонизмом всех вариантов действия. Четвертичные антихолинэстеразные вещества, несущие электрический заряд, в большей степени взаимодействуют с Н-холинорецепторами, а нейтральные третичные аммониевые производные – с М-холинорецепторами. Именно степень поляризации молекулы антихолинэстеразных ядов определяет не только их проницаемость через гематоэнцефалический барьер, но и биологические эффекты, клиническое применение и терапию передозировок. Соответственно с этим были даны рекомендации для выбора наиболее активных антидотных средств при отравлении различными антихолинэстеразными средствами. В последующем в соавторстве с профессором Н.В. Саватеевым, под руководством которого проводились аналогичные исследования, в 1976 г. была опубликована монография «Неантихолинэстеразное действие антихолинэстеразных средств», ставшая библиографическим бестселлером и настольной книгой нескольких поколений токсикологов.

В 1969 г. В.Б. Прозоровский перешел на должность старшего научного сотрудника Научно-исследовательского испытательного института военной медицины МО СССР, где в течение многих лет руководил группой разработки новых профилактических антидотов антихолинэстеразных средств. В результате скрининговых исследований, использования метода математического анализа результатов были определены оптимальные свойства карбаматов – ингибиторов холинэстеразы (ХЭ) и проведен их отбор для последующего практического использования. В частности, отмеченный антагонизм нового обратимого ингибитора ХЭ аминостигмина и М-холинблокатора атропина впоследствии использован для обоснования способа лечения отравлений атропиноподобными веществами. В ходе дальнейших исследований В.Б. Прозоровским и соавторами на основе аминостигмина был создан обратимый ингибитор пролонгированного действия ионостигмин.

В.Б. Прозоровским был сформулирован и успешно реализован в создании профилактического антидота П-6 принцип построения современных профилактических антидотов, особенностями применения которых определяют

необходимость такого сочетания компонентов и обоснования их доз, когда защитное действие действующих начал суммируется, а побочное взаимно подавляется. Эта работа в 1981 г. отмечена Государственной премией СССР.

В.Б. Прозоровским совместно с коллегами изучено 120 новых нефосфорорганических ингибиторов ХЭ. Полученные данные позволили установить многие закономерности между строением и действием пиридилкарбаматов, выявили несколько соединений, не имеющих зарубежных аналогов или превосходящих их по активности. Среди них препараты для лечения глаукомы, устранения психотомиметического действия холинблокаторов, нарушений кратковременной памяти, эффективные дератизационные средства. Большим достижением В.Б. Прозоровского и Л.В. Павловой был синтез и доклиническое изучение не проникающего через гематоэнцефалический барьер производного аминостигмина препарата «бизерин» с выраженным антихолинэстеразным действием и избирательной активацией М-холинорецепторной кишки, предупреждающим и устраняющим его парез на самых разных моделях. При однократном введении он обеспечивал лечебный эффект в течение нескольких дней. К сожалению, этот препарат так и не был внедрен в промышленное производство.

В течение 1970-1990-х гг. В.Б. Прозоровский активно участвовал по организации и работе Института экологической токсикологии в г. Байкальске, директором которого стал один из его учеников А.М. Бейм. Неоднократно посещая этот институт, Валентин Борисович участвовал в составлении планов исследований. Им и сотрудниками института выполнена работа по многофакторному анализу значимости различных токсикантов при их одновременном воздействии на рыб в условиях разной жесткости и температуры воды. Установлено, что именно температура водоемов является наиболее значимой для нормирования ПДК токсикантов.

В последние годы В.Б. Прозоровский изучал влияние антихолинэстеразных средств на клетки, не имеющие целенаправленной холинэргической иннервации: эритроциты, тучные клетки, эндотелиоциты. Им было показано, что при отравлении животных антихолинэстеразными веществами происходит деформация эритроцитов и эндотелиоцитов, что способствует резкому нарушению микроциркуляции и снижению эффективности антидотной терапии. Такой вариант действия, не описанный ранее, был назван «дистантным», не сопряженным с воздействиями яда на синаптические структуры. Отмечена значимость дистантного действия антихолинэстеразных средств в патогенезе интоксикации фосфорорганическими инсектицидами и установлено

участие в нём цитоскелета клеток, содержащих ХЭ.

В.Б. Прозоровский внёс значительный вклад в разработку методов математической обработки и оценки токсикологических и экологических экспериментов. Он не только активно выступил против использования фактически несуществующей абсолютной летальной дозы LD_{100} , но и предложил новый способ вычисления дозы LD_{99} и любых других доз за счет сочетания метода пробит-анализа с методом наименьших квадратов Чебышева. Известно, что по мере повышения эффективности антидотов, особенно за счет их комбинации, кривая летальности становится более пологой. Нарушение параллельности контрольной и опытной кривых делает некорректной оценку их эффективности за счет сдвига LD_{50} . Для исправления этого недостатка В.Б. Прозоровский предложил численные методы определения количества LD_{99} , при введении которых антидот обеспечивает снижение летальности животных до 50 % («показатель антидотной мощности») или до 1 % («показатель гарантированной защиты»). В ряде случаев, в особенности при создании антидота, необходимо знать всю площадь в параметрах доза-эффект, характеризующую его защитное действие («показатель тотальной эффективности»). Для адекватного сравнения результатов экспериментов Валентином Борисовичем предложена формула для расчета ошибки защитного коэффициента (индекса), а также несколько методов ускоренного определения средней эффективной дозы. Наибольшей популярностью пользуется не требующий большой затраты времени и животных табличный метод определения средних эффективных доз. В 1994 г. В.Б. Прозоровским было опубликовано «Практическое пособие по статистической обработке эффективных доз и концентраций», в которое включено большинство собственных предложений автора.

В.Б. Прозоровский запомнится яркими лекциями в высших учебных и научных учреждениях города. В течение многих лет он вел большую научно-популяризаторскую работу, систематически публикуя статьи в таких журналах как «Наука и жизнь», «Химия и жизнь», «Российские аптеки» и др. Он автор четырех научно-популярных книг, некоторые из которых переизданы в бывших республиках СССР.

В.Б. Прозоровский автор и соавтор более 200 научных работ, в том числе пяти монографий и 17 изобретений. За значительный вклад в Российскую науку, разработку высокоэффективных средств профилактики интоксикаций высокотоксичными веществами В.Б. Прозоровский удо-

стоен почетного звания «Заслуженный деятель науки РФ», награжден орденом Почета. Им воспитана целая плеяда учеников, которые под его руководством и консультативной помощи стали кандидатами и докторами наук.

Стремительно развивающиеся события последних лет, изменения ценностей и приоритетов никогда не смогут затмить значимость результатов добытых для соотечественников конкретным человеком. По прошествии времени вклад ученого в науку становится всё отчетливее. Только пережив в полной мере и радость побед, и сомнения критиков, можно всецело слиться с достигнутым, быть неподвластным ни времени, ни обстоятельствам. Счастье тому, кто на серьезных рубежах своего жизненного пути продолжает уверенно смотреть вперед. Все это в полной мере было присуще Валентину Борисовичу Прозоровскому, славному представителю когорты военных токсикологов, положивших на алтарь науки многие годы кропотливого труда.

Токсиколог-практик найдет в его работах рецептуры антидотов и рекомендации по их применению. Биолог-теоретик оценит нестареющие данные о неантихолинэстеразных эффектах антихолинэстеразных веществ уже не как конкретные факты, но как научный подход, позволивший самому автору экстраполировать представления до нехолинэргических эффектов органофосфатов. Система оценки эффективных доз, предложенная Валентином Борисовичем, прошла проверку временем и внесена в современные руководства по оценке лекарственных средств. Клиницисты будут широко использовать амностигмин, идеологом создания и первым исследователем которого был Валентин Борисович. Яркий талант Валентина Борисовича запомнится в его стихах, в выставках картин и авторских фотографий.

Светлая память о Валентине Борисовиче Прозоровском будет жить в наших сердцах, наполняя примером беззаветного служения токсикологии.

*Командование и коллектив
Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины
Министерства обороны Российской Федерации, руководство Военно-научного комитета Главного военно-медицинского управления МО РФ.
Всероссийская общественная организация токсикологов
Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»*

БЮЛЛЕТЕНЬ



*Российского регистра потенциально
опасных химических
и биологических веществ*

РЕГУЛИРОВАНИЕ ОБРАЩЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ОРГАНАМИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

1 июля 2010 года вступило в силу Решение комиссии Таможенного союза от 28 мая 2010 года № 299 «О применении санитарных мер в Евразийском экономическом союзе».

СОГЛАШЕНИЕ ТАМОЖЕННОГО СОЮЗА ПО САНИТАРНЫМ МЕРАМ приняты в целях обеспечения охраны таможенной территории таможенного союза от завоза и распространения инфекционных и массовых неинфекционных болезней (отравлений) среди населения, продукции (товаров), не соответствующей санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим.

В целях реализации Соглашения таможенного союза по санитарным мерам разработаны следующие документы:

Единый перечень товаров, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) на таможенной границе и таможенной территории таможенного союза.

Единая форма документа, подтверждающего безопасность продукции (товаров) (Единая форма свидетельства о государственной регистрации).

Положение о порядке осуществления государственного санитарно-эпидемиологического надзора (контроля) за лицами и транспортными средствами, пересекающими таможенную границу таможенного союза, подконтрольными товарами, перемещаемыми через таможенную границу таможенного союза и на таможенной территории таможенного союза.

Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю).

Единый перечень товаров, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) на таможенной границе и таможенной территории таможенного союза содержит три раздела:

Раздел I. ПЕРЕЧЕНЬ товаров, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)

Раздел II. ПЕРЕЧЕНЬ товаров, подлежащих государственной регистрации

Раздел III. ПЕРЕЧЕНЬ товаров, на которые не требуется представления свидетельства о государственной регистрации вне зависимости от присвоения кода ТН ВЭД ТС в соответствии Перечнем товаров, подлежащих государственной регистрации.

В раздел III входят:

- образцы продукции, предназначенные для проведения санитарно-эпидемиологической экспертизы с целью оформления свидетельств о государственной регистрации;

- продукция, произведенная на территории таможенного союза по заказам и нормативно-технической документации зарубежных фирм и предназначенная для реализации за ее пределами;

- товары, предназначенные для использования в качестве лабораторных реактивов, лабораторная посуда, (за исключением радиационно-опасных и содержащих нативный инфекционный материал);

Наибольший интерес вызывает деятельность Роспотребнадзора в части химической продукции, поименованной в разделе II «Перечне товаров, подлежащих государственной регистрации». Индикаторным показателем необходимости государственной регистрации является код ТН ВЭД ТС.

Основанием для отнесения подконтрольных товаров к разделам II и III Единого перечня товаров при их ввозе и обращении на таможенной территории Таможенного союза служат сведения, содержащиеся в транспортных (перевозочных) и (или) коммерческих документах, или в информационном письме изготовителя (производителя) продукции и подтверждающие указанную в разделах II и III Единого перечня товаров область применения продукции.

Государственной регистрации подлежат впервые изготавливаемые на Таможенной территории таможенного союза, а также впервые ввозимые на таможенную территорию таможенного союза подконтрольные товары.

Сырье, активно действующие вещества, предназначенные изготовителем (производителем) исключительно для производства парфюмерно-косметической продукции, средств бытовой химии, средств защиты растений и средств дезинфекции, дезинсекции и дератизации, а также продукции фармацевтической промышленности, не подлежат государственной регистрации.

В соответствии с Перечнем государственной регистрации подлежат только та продукция, которая указана в группах продукции, перечисленных в начале Раздела II единого перечня, и одновременно находится в описаниях товарных позиций ТН ВЭД ТС с соответствующими изъятиями и оговорками.

Так, не подлежат государственной регистрации перечисленные в товарной номенклатуре внешнеэкономической деятельности Таможенного союза соли и сложные эфиры из позиций 2915, 2916, 2917, 2918 следующих подсубпозиций:

2915 12 000 0, 2915 13 000 0, 2915 24 000 0, соли и сложные эфиры из 2915 29 000 0, 2915 31 000 0, 2915 32 000 0, 2915 33 000 0, 2915 36 000 0, соли и сложные эфиры 2915 39 000 0, соли и эфиры из 2915 40 000 0, соли и сложные эфиры из 2915 50 000 0, соли и сложные эфиры из 2915 60 110 0, 2915 60 190 0, соли и сложные эфиры из 2915 60 900 0, соли и сложные эфиры из 2915 70 000 0, соли и сложные эфиры из 2915 90 000 0;

(в ред. решения Совета Евразийской экономической комиссии от 24.08.2012 N 73)

соли акриловой кислоты из 2916 11 000 0, сложные эфиры акриловой кислоты 2916 12 000 0, соли из 2916 13 000 0, сложные эфиры 2916 14 000 0, соли и сложные эфиры из 2916 15 000 0, соли и сложные эфиры из 2916 19 100 0, соли из 2916 34 000 0, сложные эфиры 2916 39 100 0, соли и сложные эфиры из 2916 39 900 0;

(в ред. решений Совета Евразийской экономической комиссии от 15.06.2012 N 36, от 24.08.2012 N 73, от 18.09.2014 N 78)

соли и сложные эфиры из 2917 11 000 0, соли и сложные эфиры из 2917 12 000 0, соли и сложные эфиры из 2917 13 900 0, соли и сложные эфиры из 2917 19 (соли и сложные эфиры из 2917 19 100 0 и из 2917 19 900 0), 2917 32 000 0, 2917 33 000 0, 2917 34 100 0, 2917 34 900 0, соли из 2917 36 000 0, 2917 37 000 0, соли и сложные эфиры из 2917 39 (сложный эфир или ангидрид тетрабромфталевой кислоты из 2917 39 200 0, соли и сложные эфиры из 2917 39 950 0);

(в ред. решения Совета Евразийской экономической комиссии от 24.08.2012 N 73)

соли и сложные эфиры из 2918 11 000 0, соли и сложные эфиры из 2918 13 000 0, соли и сложные эфиры из 2918 15 000 0, соли и сложные эфиры из 2918 16 000 0, соли и сложные эфиры из 2918 19 (соли и сложные эфиры из 2918 19 300 0, соли и

сложные эфиры 2918 19 980 0), соли из 2918 21 000 0, соли и сложные эфиры из 2918 22 000 0, 2918 23 000 0, соли и сложные эфиры из 2918 29 000 0; соли и сложные эфиры из 2918 30 000 0, соли и сложные эфиры из 2918 91 000 0, соли и сложные эфиры из 2918 99.

Много вопросов возникает относительно химической продукции с кодом ТН ВЭД ТС 3824 «Продукты и препараты химические, химической или смежных отраслей промышленности (включая препараты, состоящие из смесей природных продуктов), в другом месте не поименованные или не включенные». В большинстве случаев продукция с данным кодом подлежит государственной регистрации. При возникновении спорных моментов следует официально обращаться в Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Адрес: 127994, г. Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7. Телефон: +7 (499) 973-26-90. Сайт: <http://www.rosпотребнадзор.ru/>).

Не подлежат государственной регистрации промышленные биоциды с кодом ТН ВЭД ТС 3808, т.к. из данной группы регистрации подлежат «Инсектициды, родентициды, фунгициды, гербициды, противовсходовые средства и регуляторы роста растений, средства дезинфицирующие и аналогичные им, расфасованные в формы или упаковки для розничной продажи или представленные в виде готовых препаратов или изделий (например, ленты, обработанные серой, фитили и свечи, и бумага липкая от мух) - предназначенные для применения в быту, в лечебно-профилактических учреждениях и на других объектах для обеспечения безопасности и здоровья людей (кроме ветеринарии)».

К сожалению, в рамках Соглашения Таможенного союза по санитарным мерам целый ряд чрезвычайно и высоко опасных химических продуктов (коды ТН ВЭД ТС: 26, 27, 28, часть 29), не подпадают под процедуру государственной регистрации в рамках Таможенного союза:

- продукты неорганической химии (тяжелые металлы и их производные, кислоты, щелочи, пероксиды);
- ароматические углеводороды и их производные;
- нефтепродукты.

Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) устанавливают гигиенические показатели и нормативы безопасности подконтрольных товаров, включенных в Единый перечень товаров, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) на таможенной границе и таможенной территории таможенного союза (далее – Единый перечень товаров).

Единые санитарные требования обязательны для соблюдения органами исполнительной власти государств – членом таможенного союза (далее – Сторон), органами местного самоуправления, юридическими лицами любой организационно-правовой формы, индивидуальными предпринимателями, физическими лицами.

Требования к химической и нефтехимической продукции отражены в Разделе 19. «Требования к химической и нефтехимической продукции производственного назначения».

Согласно требованиям потенциально опасные химические вещества в составе химической и нефтехимической продукции и примесей подлежат оценке опасности для здоровья человека. В этой связи огромное количество вопросов связано с тем, что следует считать потенциально опасным веществом. Потенциально опасное химическое вещество - индивидуальное вещество (соединение) природного или искусственного происхождения, способное в условиях производства, применения, транспортировки, переработки, а также в бытовых условиях оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье человека и окружающую природную среду.

Согласно принятым в отечественной гигиене и профилактической токсикологии классификациям опасности все химические вещества представляют потенциальную опасность. Степень опасности зависит от дозы/концентрации и способа поступления в организм.

Критерии оценки опасности химической и нефтехимической продукции производственного назначения, представленные в разделе 19, являются симбиозом отечественных критериев опасности, а также показателей токсичности, представленных в Согласованной на глобальной уровне системе классификации и маркировки химических веществ и смесей.

Производитель, импортер для токсиколого-гигиенической оценки химической продукции обязан предоставить следующую информацию о подконтрольной продукции:

- Для продукции, представляющей собой индивидуальное химическое вещество: химическое наименование в соответствии с требованиями Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC), синонимы, торговые наименования, номера CAS (Chemical Abstracts Service), ЕС, номера регистрации в системе REACH); молекулярную (брутто) формулу, молекулярную (атомную) массу;

для смесевой продукции: наименование продукта, для каждого компонента (вещества) смеси: химическое наименование в соответствии с требованиями Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC), синонимы, торговые наименования, номера CAS (Chemical

Abstracts Service), ЕС, номера регистрации в системе REACH; молекулярную (брутто) формулу; его процентное содержание .

- Область применения.
- Физико-химические показатели.
- Показатели острой пероральной токсичности – DL_{50} per os.
- Показатели острой дермальной токсичности – DL_{50} cut.
- Показатели острой ингаляционной токсичности – CL_{50} .
- Данные о раздражающем действии на кожу и слизистые оболочки.
- Показатели подострой пероральной токсичности (кумулятивные свойства), коэффициент кумуляции.
- Показатели подострой кожной токсичности (для продукции, обладающей выраженной дермальной опасностью).
- Показатели подострой ингаляционной токсичности (для продукции, представляющей выраженную ингаляционную опасность).
- Сведения о хронической токсичности.
- Сведения о сенсибилизирующем действии.
- Сведения о гонадотоксическом действии.
- Сведения об эмбриотоксическом действии.
- Сведения о тератогенном действии.
- Сведения о мутагенном действии.
- Сведения о канцерогенном действии.
- Меры первой помощи при отравлении.
- Гигиенические нормативы в среде обитания человека.

Для целей выдачи документа, подтверждающего безопасность продукции (товаров), представляются следующие документы:

для подконтрольных товаров, изготавливаемых на таможенной территории таможенного союза:

- заявление;
- копии документов, в соответствии с которыми изготавливается продукция (стандарты, технические условия, регламенты, технологические инструкции, спецификации, рецептуры, сведения о составе), заверенные изготовителем (производителем, заявителем);
- копия документа изготовителя (производителя), удостоверяющего безопасность и качество исследуемых образцов, заверенная в соответствии с законодательством Стороны, в которой проводится государственная регистрация
- документ изготовителя (производителя) по применению (эксплуатации, использованию) подконтрольных товаров (инструкция, руководство, регламент, рекомендации) либо его копия, заверенная изготовителем (производителем, заявителем) (при наличии);
- копии этикеток (упаковки) или их макеты на подконтрольные товары, заверенные заявителем;

- акт отбора образцов (проб);
- протоколы исследований (испытаний), научные отчеты, экспертные заключения;
- выписка из Единого государственного реестра юридических лиц или Единого государственного реестра индивидуальных предпринимателей;

для подконтрольных товаров, изготавливаемых вне таможенной территории таможенного союза:

- заявление;
- копии документов, в соответствии с которыми изготавливается продукция (стандарты, технические условия, регламенты, технологические инструкции, спецификации, рецептуры, сведения о составе), заверенные в соответствии с законодательством Стороны, в которой проводится государственная регистрация;
- документ изготовителя (производителя) по применению (эксплуатации, использованию) подконтрольных товаров (инструкция, руководство, регламент, рекомендации) либо его копия, заверенная заявителем (при наличии);
- копия документа изготовителя (производителя), удостоверяющего безопасность и качество исследуемых образцов, заверенная в соответствии с законодательством Стороны, в которой

проводится государственная регистрация;

- копии этикеток (упаковки) продукции, заверенные изготовителем (производителем), заявителем;
- протоколы исследований (испытаний), научные отчеты, экспертные заключения; копии документов, подтверждающих ввоз образцов подконтрольных товаров на таможенную территорию таможенного союза, заверенные в соответствии с законодательством Стороны, в которой проводится государственная регистрация.

Срок действия свидетельства о государственной регистрации устанавливается на весь период изготовления продукции или поставок подконтрольных товаров на территорию таможенного союза.

Единый перечень товаров и Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования действуют до вступления в силу на данную продукцию Технического регламента Евразийского экономического союза.

Х.Х. Хамидулина
ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора

